



VNIVERSITATIS VALÈNCIA

Facultad de Farmacia

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Doctorado en Biomedicina y Farmacia

**ESTUDIO DE INTERACCIONES FARMACOCINÉTICAS DEL
EFAVIRENZ CON FÁRMACOS METABOLIZADOS POR EL CYP450:
SERTRALINA, NORTRIPTILINA Y RIFAMPICINA**

Memoria para optar al grado de Doctor presentada por

VIRGINIA MELIS

Director

JOSÉ ESTEBAN PERIS RIBERA

Valencia, 2014



DOCTORADO EN BIOMEDICINA Y FARMACIA

D. José Esteban Peris Ribera, Doctor en Farmacia y Profesor Titular del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universitat de València,

CERTIFICA:

Que el trabajo presentado por Virginia Melis, titulado “Estudio de interacciones farmacocinéticas del efavirenz con fármacos metabolizados por el CYP450: sertralina, nortriptilina y rifampicina”, ha sido realizado bajo su dirección.

Concluido el trabajo experimental y bibliográfico, autoriza la presentación de la Tesis para que sea juzgado por el tribunal correspondiente.

Lo que suscribe en Valencia en septiembre de 2014.

Fdo.: José Esteban Peris Ribera

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero darle las gracias a mi director de tesis, Dr. José Esteban Peris, por su dedicación, su paciencia y por todo lo que me ha enseñado durante estos años y también por el tiempo y el trabajo invertido en la realización de esta tesis.

También me gustaría darle las gracias a todos los compañeros y al personal del departamento, sobre todo a mis dos compañeras del laboratorio, Iris, que desde que llegué me ayudó en todo lo que necesité y Patri, por darle alegría al laboratorio. A ambas gracias por su compañía y por haberme dado ánimo en los momentos más difíciles.

Gracias a todos los compañeros y profesoras de la Universidad de Cagliari, donde realicé mi breve estancia.

Gracias a mis amigos, que no tienen nada que ver con mi tesis, pero han sabido estar conmigo con mucho cariño a pesar de la distancia y siempre han tenido palabras de ánimo para mí en estos años.

Por último, pero no menos importante, quiero darle las gracias a mi familia. Ai miei genitori e a mia sorella, per aver vissuto con me passo per passo questa tesi e per aver sopportato i miei momenti di malumore. Grazie per tutto quello che avete fatto per me in questi lunghi anni, per i consigli, gli incoraggiamenti e le coccole che non mi avete mai fatto mancare nonostante la distanza. Senza il vostro sostegno non credo che sarei potuta arrivare fino a qui! Grazie anche a mia zietta Frichi, per le lunghe chiacchierate virtuali che mi hanno confortato e aiutata a sentirmi meno sola!

¡Mil gracias a todos!

ABREVIATURAS

7-OH-EFV: 7-hidroxi-EFV

8-OH-EFV: 8-hidroxi-EFV

8,14-diOH-EFV: 8,14-dihidroxi-EFV

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADNc: ADN complementario (o ADN copia)

ARN: Ácido ribonucleico

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

AUC_{0-∞}: Área bajo la curva concentración-tiempo desde tiempo cero hasta infinito

AUC_{last}: Área bajo la curva concentración-tiempo desde tiempo cero hasta el último tiempo de muestreo

β-NADP⁺: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

CD: Grupo de diferenciación (*Cluster of differentiation*, en inglés)

CI₅₀ (*IC₅₀ en inglés*): Concentración de inhibidor que reduce en un 50% la actividad enzimática *in vitro*

C_{max}: Concentración plasmática máxima

CV: Carga viral plasmática

CYP: Citocromo P450

DE: Desviación estándar

ECDC: Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades

EFV: Efavirenz

env: *Envelope*

FDA: Food and Drug Administration (Agencia de Alimentos y Medicamentos estadounidense)

Fmoc-Cl: 9H-fluoren-9-ylmethyl chloroformate

G6P: Glucosa-6-Fosfato

G6PDH: Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa

gag: *Group specific antigen*

GeSIDA: Grupo de estudio del SIDA de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

gp: Glicoproteínas

HPLC: Cromatografía líquida de alta eficacia

i.p.: Intraperitoneal

IF: Inhibidores de la fusión/entrada

Int: Inhibidores de la integrasa

IP: Inhibidores de la proteasa

ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos

ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos

K_m: Constante de Michaelis-Menten: concentración de sustrato a la que se obtiene una velocidad que es la mitad de la velocidad máxima (V_{máx})

LCR: líquido cefalorraquídeo

LTR: Repetición Terminal Larga (*Long Terminal Repeat*, en inglés)

NT: Nortriptilina

OMS: Organización Mundial de la Salud

pol: *Polymerase*

p.o.: *per os*, por vía oral

RFP: Rifampicina

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

SRT: Sertralina

$t_{1/2}$: Semivida plasmática

t_{\max} : Tiempo hasta alcanzar la concentración plasmática máxima

TARGA: Terapia antirretroviral de gran actividad

UNAIDS: Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA
(*Joint United Nations Programme on HIV and AIDS*, en inglés)

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

V_{\max} : Velocidad máxima de una reacción enzimática

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de la infección por VIH.	pág. 6
Figura 2. Estructura del virus VIH.	pág. 10
Figura 3. Fases del ciclo replicativo del virus VIH-1.	pág. 12
Figura 4. Estructura química del EFV.	pág. 21
Figura 5. Estructura química de la SRT.	pág. 26
Figura 6. Estructura química de la NT.	pág. 29
Figura 7. Estructura química de la RFP.	pág. 31
Figura 8. Tiempos de muestreo sanguíneo.	pág. 41
Figura 9. Representación esquemática del procesamiento de las muestras plasmáticas de SRT.	pág. 47
Figura 10. Cromatograma correspondiente a un patrón de EFV en plasma de rata.	pág. 51
Figura 11. Cromatograma correspondiente a la determinación del metabolito 8-OH-EFV en una muestra de microsomas hepáticos de rata incubados con EFV.	pág. 52
Figura 12. Cromatogramas correspondientes a un blanco de plasma y a un patrón de SRT en plasma de rata.	pág. 53

Figura 13. Cromatograma correspondiente a un patrón de RFP en plasma de rata.	pág. 54
Figura 14. Niveles plasmáticos medios de EFV obtenidos en los animales de los grupos 1, 3 y 4 (estudio de la interacción entre EFV y SRT).	pág. 56
Figura 15. Niveles plasmáticos medios de SRT obtenidos en los animales de los grupos 2, 3 y 4 (estudio de la interacción entre EFV y SRT).	pág. 59
Figura 16. Niveles plasmáticos medios de EFV obtenidos en los animales de los grupos 5, 6 y 7 (estudio de la interacción entre EFV y NT).	pág. 62
Figura 17. Representación gráfica de la cinética de Michaelis-Menten correspondiente a la formación del metabolito 8-OH-EFV.	pág. 65
Figura 18. Representación gráfica de Lineweaver-Burk correspondiente a la formación del metabolito 8-OH-EFV.	pág. 67
Figura 19. Representación gráfica correspondiente a la disminución de la velocidad de formación del 8-OH-EFV en función de la concentración de inhibidor (SRT y NT).	pág. 69
Figura 20. Niveles plasmáticos medios de EFV obtenidos en los animales de los grupos 8, 9, 10 y 11 (estudio de la interacción entre EFV y RFP).	pág. 71
Figura 21. Niveles plasmáticos medios de RFP obtenidos en los	pág. 74

animales de los grupos 9, 10 y 11 (estudio de la interacción entre EFV y RFP).

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Fármacos antirretrovirales comercializados actualmente para el tratamiento del SIDA.	pág. 16
Tabla 2. Combinaciones de fármacos antirretrovirales recomendadas en pacientes que inician el tratamiento anti-VIH, según GeSIDA en 2014.	pág. 19
Tabla 3. Preparados comerciales de EFV.	pág. 22
Tabla 4. Parámetros farmacocinéticos de EFV.	pág. 23
Tabla 5. Grupos de ratas empleados para el estudio de la interacción <i>in vivo</i> entre EFV y SRT.	pág. 40
Tabla 6. Grupos de ratas empleados para el estudio de la interacción <i>in vivo</i> entre EFV y NT.	pág. 43
Tabla 7. Grupos de ratas empleados para el estudio de la interacción <i>in vivo</i> entre EFV y RFP.	pág. 44
Tabla 8. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales de los grupos 1, 3 y 4 (estudio de la interacción entre EFV y SRT).	pág. 55
Tabla 9. Parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los grupos 1, 3 y 4 y comparación estadística.	pág. 57

Tabla 10. Niveles plasmáticos de SRT obtenidos en los animales de los grupos 2, 3 y 4 (estudio de la interacción entre EFV y SRT).	pág. 58
Tabla 11. Parámetros farmacocinéticos de SRT obtenidos en los grupos 2, 3 y 4 y comparación estadística.	pág. 60
Tabla 12. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales de los grupos 5, 6 y 7 (estudio de la interacción entre EFV y NT).	pág. 61
Tabla 13. Parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los grupos 5, 6 y 7 y comparación estadística.	pág. 63
Tabla 14. Velocidades iniciales de formación del metabolito 8-OH-EFV en función de las concentraciones de EFV.	pág. 64
Tabla 15. Valores de los inversos de las concentraciones de EFV y de la velocidad de formación del metabolito 8-OH-EFV utilizados para el cálculo de V_{\max} y K_m .	pág. 66
Tabla 16. Disminución de la velocidad de formación del 8-OH-EFV en función de la concentración de SRT.	pág. 68
Tabla 17. Disminución de la velocidad de formación del 8-OH-EFV en función de la concentración de NT.	pág. 68
Tabla 18. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales de los grupos 8, 9, 10 y 11 (estudio de la interacción entre EFV y RFP).	pág. 70
Tabla 19. Parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los grupos	pág. 72

8, 9, 10 y 11 y comparación estadística.

Tabla 20. Niveles plasmáticos de RFP obtenidos en las ratas de los grupos 9, 10 y 11. pág. 73

Tabla 21. Parámetros farmacocinéticos de RFP obtenidos en los grupos 9, 10 y 11. pág. 75

Tabla A1. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 1. pág. 97

Tabla A2. Valores de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en las ratas del grupo 1. pág. 98

Tabla A3. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 3. pág. 98

Tabla A4. Valores de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en las ratas del grupo 3. pág. 99

Tabla A5. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 4. pág. 99

Tabla A6. Valores de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en las ratas del grupo 4. pág. 100

Tabla A7. Niveles plasmáticos de SRT obtenidos en los animales del grupo 2. pág. 100

Tabla A8. Valores de los parámetros farmacocinéticos de SRT pág. 101

obtenidos en las ratas del grupo 2.

Tabla A9. Niveles plasmáticos de SRT obtenidos en los animales del grupo 3. pág. 101

Tabla A10. Valores de los parámetros farmacocinéticos de SRT obtenidos en las ratas del grupo 3. pág. 102

Tabla A11. Niveles plasmáticos de SRT obtenidos en los animales del grupo 4. pág. 102

Tabla A12. Valores de los parámetros farmacocinéticos de SRT obtenidos en las ratas del grupo 4. pág. 103

Tabla A13. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 5. pág. 104

Tabla A14. Valores de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en las ratas del grupo 5. pág. 105

Tabla A15. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 6. pág. 105

Tabla A16. Valores de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en las ratas del grupo 6. pág. 106

Tabla A17. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 7. pág. 106

Tabla A18. Valores de los parámetros farmacocinéticos de EFV pág. 107

obtenidos en las ratas del grupo 7.

Tabla A19. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del grupo 8. pág. 108

Tabla A20. Parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 8. pág. 109

Tabla A21. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 9. pág. 109

Tabla A22. Parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 9. pág. 110

Tabla A23. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 10. pág. 110

Tabla A24. Parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 10. pág. 111

Tabla A25. Niveles plasmáticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 11. pág. 111

Tabla A26. Parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los animales del grupo 11. pág. 112

Tabla A27. Niveles plasmáticos de RFP obtenidos en los animales del grupo 9. pág. 113

Tabla A28. Parámetros farmacocinéticos de RFP obtenidos en los animales del grupo 9. pág. 114

Tabla A29. Niveles plasmáticos de RFP obtenidos en los animales del grupo 10. pág. 114

Tabla A30. Parámetros farmacocinéticos de RFP obtenidos en los animales del grupo 10. pág. 115

Tabla A31. Niveles plasmáticos de RFP obtenidos en los animales del grupo 11. pág. 115

Tabla A32. Parámetros farmacocinéticos de RFP obtenidos en los animales del grupo 11. pág. 116

ÍNDICE

RESUMEN/ABSTRACT	- 1 -
INTRODUCCIÓN	- 5 -
1. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida y virus de inmunodeficiencia humana	- 5 -
2. Estructura y ciclo replicativo del VIH.....	- 10 -
3. Terapia antirretroviral	- 14-
4. Metabolismo y citocromo P450	- 20 -
5. Efavirenz (EFV).....	- 21 -
6. Sertralina (SRT)	- 25 -
7. Nortriptilina (NT)	- 28 -
8. Rifampicina (RFP)	- 30 -
OBJETIVOS	- 35 -
MATERIALES Y METODOS	- 37 -
1. Fármacos y reactivos	- 37 -
2. Animales de experimentación.....	- 37 -
2.1. Ensayos <i>in vivo</i>	- 38 -

2.2. Ensayos <i>in vitro</i>	38 -
3. Diseño de los estudios.....	40 -
3.1. Interacción entre EFV y SRT	40 -
3.1.1. Ensayos <i>in vivo</i>	40 -
3.1.2. Ensayos <i>in vitro</i>	42 -
3.2. Interacción entre EFV y NT	42 -
3.2.1. Ensayos <i>in vivo</i>	42 -
3.2.2. Ensayos <i>in vitro</i>	43 -
3.3. Interacción entre EFV y RFP	43 -
4. Métodos analíticos	45 -
4.1. EFV	45 -
4.2. 8-OH-EFV.....	46 -
4.3. SRT	46 -
4.4. RFP	48 -
5. Métodos farmacocinéticos y estadísticos	48 -
RESULTADOS	51-
1. Evaluación del método analítico	51 -
1.1. EFV y 8-OH-EFV	51 -

1.2. SRT	52 -
1.3. RFP	54 -
2. Interacción entre EFV, SRT y NT	54 -
2.1. Administración intraduodenal de EFV y SRT	54 -
2.1.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV	55 -
2.1.2. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de SRT	58 -
2.2. Administración intraduodenal de EFV y NT	61 -
2.2.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV	61 -
2.3. Ensayos <i>in vitro</i>	64 -
3. Interacción entre EFV y RFP	70 -
3.1. Administración intraduodenal de EFV y RFP	70 -
3.1.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV	70 -
3.1.2. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de RFP	73 -
DISCUSIÓN	77 -
1. Elección de los fármacos y de las dosis ensayadas	77 -
2. Interacción entre EFV, SRT y NT	79 -
3. Interacción entre EFV y RFP	80 -
CONCLUSIONES/CONCLUSIONS	83 -

BIBLIOGRAFIA.....	- 87 -
ANEXOS.....	- 97-
A.1. Interacción entre EFV y SRT	- 97 -
A.1.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV	- 97 -
A.1.2. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de SRT	- 100 -
A.2. Interacción entre EFV y NT.....	- 104 -
A.2.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV	- 104 -
A.3. Interacción entre EFV y RFP	- 108 -
A.3.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV	- 108 -
A.3.2. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de RFP	- 113 -

RESUMEN/ABSTRACT

En este trabajo se han estudiado las interacciones farmacocinéticas del efavirenz (EFV) con tres fármacos metabolizados por el citocromo P450 (sertralina (SRT), nortriptilina (NT) y rifampicina (RFP)), utilizando la rata como animal de experimentación. El EFV se administró por vía intraduodenal (dosis = 10 mg) y los otros fármacos se administraron por vía intraduodenal (SRT y NT) o por vía oral (RFP).

La coadministración de EFV y SRT (dosis de 5 mg y 10 mg) dio lugar a niveles plasmáticos de EFV mayores que los obtenidos en el grupo de control (animales administrados solo con EFV). Cuando se administró la dosis de 10 mg de SRT, se obtuvo un incremento estadísticamente significativo en los valores medios de C_{max} (75 %), AUC_{last} (78 %) y $AUC_{0-\infty}$ (85 %) de EFV. Sin embargo, el EFV no modificó los niveles plasmáticos de SRT.

La coadministración de EFV y NT (dosis de 5 y 10 mg) produjo un incremento en los valores de las concentraciones plasmáticas de EFV, en comparación con los obtenidos en ratas tratadas sólo con EFV. Además, se detectaron aumentos estadísticamente significativos en los valores de C_{max} (53 %), AUC_{last} (70 %) y $AUC_{0-\infty}$ (79 %) de EFV en el grupo de ratas coadministradas con 10 mg de NT.

Mediante el empleo de microsomas hepáticos de ratas se confirmó la existencia de un efecto inhibidor de SRT y NT sobre el metabolismo de EFV, ya que se observó una disminución en la velocidad de formación del metabolito 8-OH-EFV dependiente de la concentración de SRT ($CI_{50} = 35 \mu\text{g/ml}$) y NT ($CI_{50} = 3,5 \mu\text{g/ml}$).

La administración oral de RFP durante cuatro días, utilizando dosis diarias de 40 y 80 mg, provocó una disminución de las concentraciones plasmáticas de EFV cuando este fármaco se administró como dosis única en el quinto día, en comparación con los niveles plasmáticos de EFV obtenidos en el grupo control. La dosis diaria de 80 mg de RFP dio lugar a disminuciones estadísticamente significativas en los valores de C_{max} , AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ de EFV (43 %, 50 % y 50 %, respectivamente).

In this work, pharmacokinetic interactions of efavirenz (EFV) with three drugs metabolized by the cytochrome P450 (sertaline (SRT), nortriptyline (NT) and rifampicine (RFP)) were studied using rats as experimental animals. EFV was administered intraduodenally (dose = 10 mg) and the other drugs were also administered intraduodenally (SRT and NT) or orally (RFP).

The co-administration of single doses of EFV and SRT (5 mg and 10 mg) gave rise to higher EFV plasma levels than those obtained in the control group (only dosed with EFV). A statistically significant increase of the mean C_{max} (75 % increase), AUC_{last} (78 % increase) and $AUC_{0-\infty}$ (85 % increase) values of EFV was obtained when the 10 mg dose of SRT was employed. However, EFV did not modify the SRT plasma levels.

The co-administration of EFV and NT (5 and 10 mg) produced an increase of the EFV plasma concentrations, when compared to those obtained in rats dosed only with EFV, and statistically significant increases of the C_{max} (53 %), AUC_{last} (70 %) and $AUC_{0-\infty}$ (79 %) values of EFV were detected in the group of rats co-administered with 10 mg of NT.

In vitro experiments using hepatic microsomes of rats confirmed an inhibitory effect of SRT and NT on the EFV metabolism, since the formation rate of the metabolite 8-OH-EFV was reduced in a concentration-dependent way by SRT (IC_{50} = 35 μ g/ml) and NT (IC_{50} = 3.5 μ g/ml).

The oral administration of RFP during four days, using daily doses of 40 and 80 mg, provoked a decrease of the EFV plasma concentrations when this drug was administered as a single dose on the fifth day, when

compared to the EFV plasma levels obtained in the control group. The daily 80-mg dose of RFP gave rise to statistically significant decreases of the C_{max} , AUC_{last} and $AUC_{0-\infty}$ values of EFV (decreases of 43 %, 50 % and 50 %, respectively).

INTRODUCCIÓN

1. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida y virus de inmunodeficiencia humana

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), causado por la infección crónica con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), es un conjunto de manifestaciones clínicas que son consecuencia de la pérdida progresiva de linfocitos T cooperadores CD4+. Un individuo recién infectado se convierte en portador asintomático del virus hasta que, con el tiempo, desarrolla el SIDA, caracterizado por una deficiencia severa del sistema inmunitario, patologías graves e infecciones oportunistas que pueden llevar a la muerte del individuo (1).

El VIH se clasifica dentro de la familia *Retroviridae*, género *Lentivirus*, y fue aislado por primera vez en 1983 por Françoise Barre-Sinoussi, Claude Chermann y Luc Montagnier del Instituto Pasteur. La fuente de la infección por VIH se ha localizado en África, en chimpancés portadores. Se supone que el salto de especie se produjo en algunas poblaciones africanas que utilizaron la carne de estos animales como alimento y que entraron en contacto con la sangre infectada de los mismos.

Los primeros casos de SIDA se observaron en Estados Unidos en 1981 entre colectivos de homosexuales que presentaban algunas patologías raras en la población general, como pulmonías por *Pneumocystis carinii* y sarcomas de Kaposi. En estos pacientes se observó una reducción importante de linfocitos T

CD4+ y déficit inmunológico, por lo que se hipotetizó que el síndrome podía tener una etiología infecciosa (2). En los años siguientes, Luc Montagnier, junto a otros científicos del Instituto Pasteur de París, y el grupo de investigación de Robert Gallo del *Nacional Cáncer Institute* de los Estados Unidos, aislaron y caracterizaron el retrovirus VIH, identificándolo como el agente etiológico del SIDA (3).

La principal causa de la progresión del SIDA en pacientes VIH-positivos es la destrucción de los linfocitos T CD4+, que constituyen el objetivo principal del virus y que son fundamentales para la activación de la respuesta inmune específica humoral y celular. La pérdida progresiva de estas células daña al sistema inmunitario, lo que ocasiona una mayor susceptibilidad del organismo a las infecciones oportunistas (4).

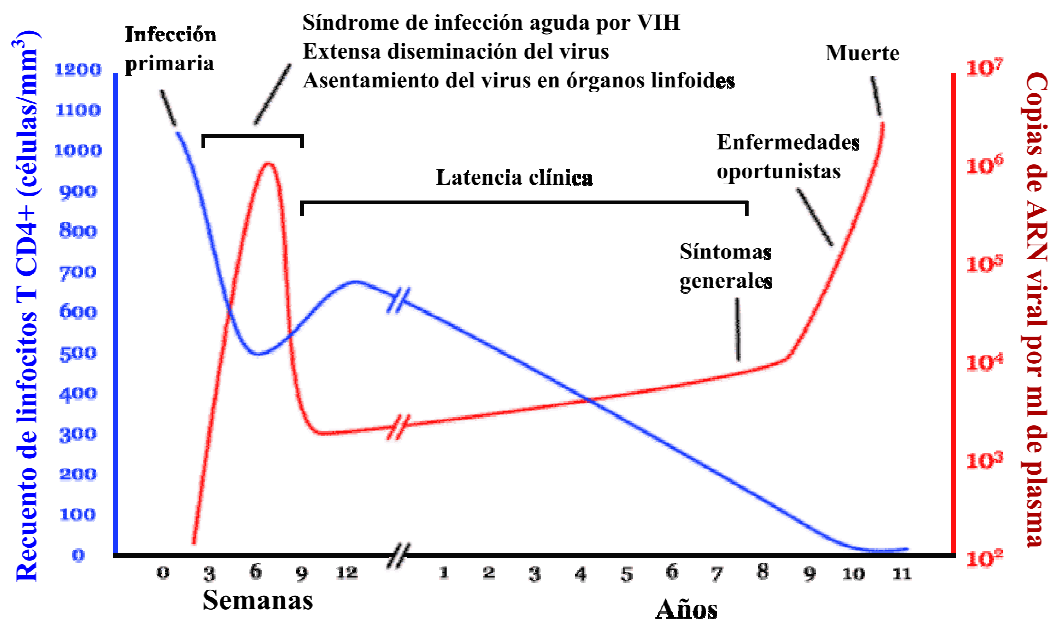


Figura 1. Evolución de la infección por VIH. En azul, evolución del recuento de linfocitos T CD4+. En rojo, evolución de la carga viral.

(<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hiv-timecourse-es.png>)

Se distinguen tres fases en la infección por el VIH (Figura 1). La primera fase es la infección aguda o infección primaria (2 a 4 semanas), durante la cual, la carga viral es muy elevada en la sangre periférica y el número de linfocitos T CD4 + disminuye rápidamente (5). El riesgo de transmisión del VIH es mayor durante esta primera fase aguda que en las fases posteriores. La siguiente fase es la infección crónica por el VIH (también llamada infección asintomática por el VIH o fase de latencia clínica), la cual puede durar diez o más años y se caracteriza por una eficaz respuesta celular específica y la síntesis de anticuerpos. El VIH sigue reproduciéndose en el cuerpo pero en concentraciones muy bajas, confinando la replicación viral a los nódulos linfáticos (6-8). La tercera fase es la fase final de la infección por el VIH y se corresponde con las manifestaciones clínicas del SIDA propiamente dicho. En esta fase, los linfocitos T CD4+ disminuyen drásticamente (menos de 200 células/mm³) y aparecen las enfermedades oportunistas (neumonía, tuberculosis) y tumores (7). Sin tratamiento, las personas con SIDA sobreviven generalmente unos tres años (9).

La respuesta inmune celular comienza en 1-2 semanas desde la infección, mientras que la respuesta inmune humoral empieza más tarde: a partir de los tres meses después de la infección (10).

La unión de los anticuerpos a las partículas virales causa la incorporación y la destrucción de los viriones por los fagocitos. Sin embargo, diversos estudios muestran que estos anticuerpos no protegen frente a la infección por VIH, de hecho, no hay correlación entre la cantidad de anticuerpos anti-VIH presentes en las mujeres infectadas durante el embarazo y la protección frente a la transmisión vertical (11).

El estado de la infección por el VIH-1 se define mediante la combinación de los datos clínicos del paciente y el número de linfocitos T CD4+. La progresiva pérdida de linfocitos T CD4+ y el deterioro del sistema inmunológico facilitan el desarrollo de las infecciones oportunistas, neoplasias y otras enfermedades características del SIDA, que finalmente pueden conducir a la muerte (12).

En la primera fase de la infección, el recuento de linfocitos T CD4+ es superior a $1000/\text{mm}^3$ de sangre, tanto en los sujetos seronegativos como en los seropositivos (en un sujeto sano se sitúa entre 500 y $1600/\text{mm}^3$). Cuando dicho recuento cae por debajo de $500/\text{mm}^3$ pueden comenzar a aparecer las infecciones, clásicas y oportunistas, relacionadas con el SIDA y por debajo de $200/\text{mm}^3$ el riesgo es máximo (8, 13, 14).

Otro marcador de la actividad del VIH, junto con el recuento de linfocitos T CD4+, es la determinación de la carga viral plasmática (CV), que se emplea como marcador de la respuesta al tratamiento antirretroviral. Niveles de ARN viral inferiores a 1000 copias por mililitro de plasma suponen un bajo riesgo de progresión de la infección, mientras que niveles superiores a 100.000 copias/ml implican un alto riesgo de progresión (15).

La carga viral es el factor predictivo más importante de transmisión de la infección: la probabilidad de contagio es máxima en la fase aguda de la infección, disminuyendo gradualmente en los meses siguientes para luego aumentar de nuevo en la fase terminal de la enfermedad. La terapia antirretroviral disminuye la carga viral y puede reducir significativamente, sin eliminarlo del todo, el riesgo de transmisión por contacto sexual (16).

El contagio del VIH se produce por vía parenteral y a través de pequeñas heridas en la piel o en las mucosas. Las vías de transmisión son el contacto sexual directo, la exposición a sangre infectada y la transmisión vertical, es decir, de la madre infectada a su hijo durante el embarazo, el parto o la lactancia (17).

El sistema de vigilancia mundial (Global AIDS surveillance) ofrece periódicamente datos sobre la propagación de casos de SIDA en los diferentes países, lo que permite saber cómo varía el número de pacientes afectados y su distribución geográfica. Según la OMS y UNAIDS, en 2012 había en el mundo unos 35,3 millones de personas infectadas por el VIH, de los cuales, 2,1 millones eran adolescentes. La gran mayoría de las personas infectadas por el VIH (alrededor de 70 %) viven en países de ingresos bajos y medios, como los del África subsahariana. Se estima que, en 2012, unos 2,3 millones de personas contrajeron el SIDA y aproximadamente 1,6 millones de personas murieron a consecuencia del mismo (OMS, 2013).

Se han identificado dos subtipos de VIH genéticamente distintos relacionados con el SIDA: VIH-1 y VIH-2. El subtipo VIH-1 está asociado con la mayoría de los casos de SIDA en el mundo y se encuentra sobre todo en Europa, Estados Unidos y África central, mientras que el subtipo VIH-2, aislado por primera vez en 1986 en el África Occidental, representa una minoría significativa de todas las infecciones por el VIH en algunos países, como Guinea-Bissau y Portugal (18), se transmite con menor facilidad y generalmente es menos patógeno que el VIH-1 (19).

2. Estructura y ciclo replicativo del VIH

El VIH es un retrovirus dotado de una enzima, la transcriptasa inversa, capaz de transcribir el ARN viral en ADN. El viri3n tiene una forma aproximadamente esférica con un diámetro de 80-100 nm y contiene dos copias de ácido ribonucleico (ARN) monocatenario en el interior de una cápsida cónica constituida por la proteína vírica p24. El ARN se halla estrechamente unido a proteínas de la nucleocápsida (p7) y enzimas: transcriptasa inversa, proteasa, ribonucleasa e integrasa. Una matriz compuesta por proteína vírica p17 protege la cápsida y rodeando a ésta se encuentra una envoltura compuesta por una bicapa de fosfolípidos procedentes de la membrana de una célula humana previamente infectada.

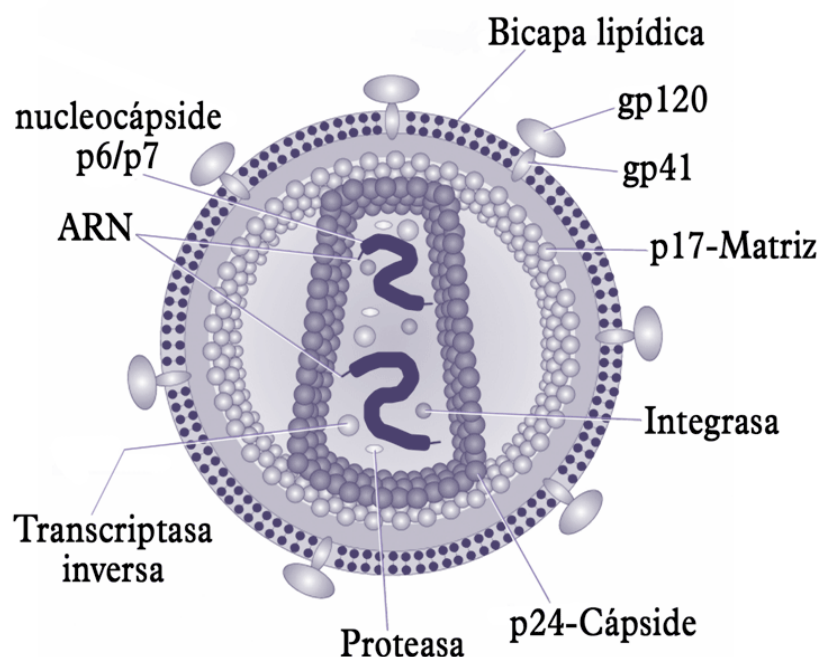


Figura 2. Estructura del virus VIH.

(<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:VIH-viri%C3%B3n.png#mediaviewer/Archivo:VIH-viri%C3%B3n.png>)

La envoltura lipídica contiene glicoproteínas virales (gp120 y gp41) que actúan en el momento de la unión del virus a la célula hospedadora (Figura 2). En cada extremidad del genoma del virus se sitúan dos secuencias de nucleótidos llamadas LTR o repetición terminal larga (del inglés, *Long Terminal Repeat*), que están implicadas en el proceso de integración en la célula huésped.

Las proteínas estructurales son codificadas por los genes *gag* (*group specific antigen*), *env* (*envelope*) y *pol* (*polymerase*). *Gag* codifica las proteínas de la cápsida, *env* codifica las proteínas de la envoltura viral (gp120 y gp41), necesarias para la fusión del VIH con la membrana de los linfocitos T CD4+, y *pol* codifica las enzimas virales transcriptasa inversa, integrasa y proteasa. La transcriptasa inversa es la enzima que transcribe el ARN del virus en ADN, una vez el núcleo viral penetra en el citoplasma de la célula huésped humana. La integrasa cataliza la inserción del ADN viral en los cromosomas celulares y la proteasa lleva a cabo la maduración del precursor proteico p55 procedente del gen *gag*, que es cortado en cuatro fragmentos correspondientes a las proteínas p24, p17, p6 y p7.

La infección por VIH se asocia a una intensa replicación viral en el organismo humano, principalmente en los linfocitos T CD4+ y, en menor medida, en monocitos/macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans y células de la microglía del cerebro.

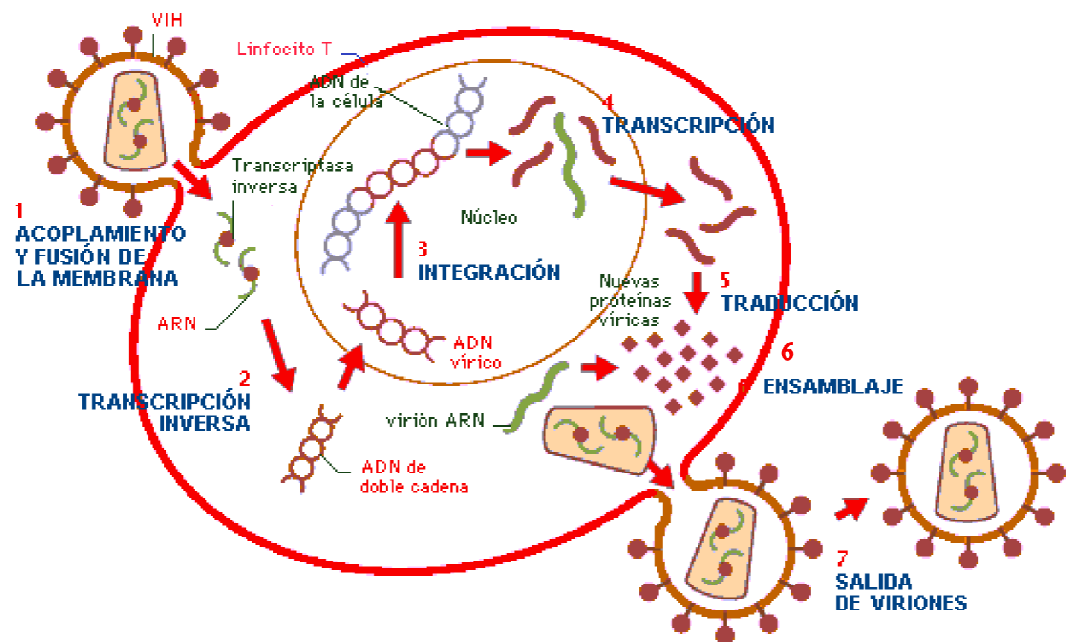


Figura 3. Fases del ciclo replicativo del virus VIH-1.

([http://www. http://cienciadelatierra.wordpress.com](http://www.cienciadelatierra.wordpress.com))

El ciclo de replicación del VIH comprende varias fases (Figura 3):

1. Acoplamiento y Fusión de la membrana. La internalización de las partículas virales en las células huésped es un fenómeno complejo, determinado en primera instancia por la unión entre la glicoproteína gp120 viral y el receptor CD4 de los linfocitos T CD4+. Los *cluster of differentiation* (CD) o grupo de diferenciación, son moléculas antigénicas expresadas en la superficie celular que tienen diversas funciones biológicas. La unión del VIH al receptor CD4 da lugar a cambios conformacionales en la glicoproteína gp120 provocando la exposición y activación de la glicoproteína gp41, que a su vez interactúa con otras proteínas receptoras, como la C-C quimioquina receptora de tipo 5 (CCR5) y la C-X-C quimioquina receptora de tipo 4 (CXCR4), expresadas en la

célula huésped (20, 21). Estas interacciones determinan la fusión de la envoltura viral con la membrana celular de la célula infectada, lo que resulta en la liberación del núcleo viral en el citoplasma de la célula.

2. Transcripción inversa. En esta segunda etapa del ciclo replicativo del VIH se obtiene una copia de ADN a partir del ARN viral mediante el proceso denominado “transcripción inversa”. El genoma viral es transportado en dos cadenas de ARN, mientras que el material genético de las células huésped se encuentra como ADN. La transcriptasa inversa transcribe el ARN viral en una cadena doble de ADN complementario o ADN copia (ADNc) denominado ADN proviral.

3. Integración. El ADN proviral es transportado al núcleo celular y se integra en el ADN de la célula huésped por acción de otra enzima viral; la integrasa. Así, cuando la célula trata de sintetizar nuevas proteínas crea accidentalmente nuevos virus VIH.

4 y 5. Transcripción y Traducción. Una vez que el genoma del VIH se encuentra integrado en el núcleo celular ordena a la célula producir nuevos virus. Las cadenas del ADN proviral se transcriben por la ARN polimerasa II celular, dando lugar a diferentes transcritos de ARN mensajero (ARNm) que codifican para las proteínas estructurales y reguladoras del virus.

6. Ensamblaje viral. Las largas cadenas de proteínas son cortadas en pequeñas proteínas individuales por la enzima proteasa. Las proteínas migran entonces hacia la membrana citoplasmática de la célula huésped donde se ensambla el ARN, las enzimas virales y las proteínas estructurales. Además, algunas proteínas virales se incorporan a la

membrana plasmática de la propia célula huésped para formar la envoltura viral.

7. Salida de viriones. Una vez que las nuevas partículas virales son ensambladas, se liberan de la célula huésped por gemación de la membrana. Las nuevas copias del VIH pueden ahora infectar a otras células (22).

3. Terapia antirretroviral

La prevención, detección y adecuado tratamiento de las enfermedades asociadas con el SIDA permiten mejorar la calidad de vida y la supervivencia de los pacientes con infección por el VIH (23). Sin embargo, ha sido la terapia antirretroviral la que ha mejorado sustancialmente el pronóstico de la infección por el VIH en los últimos años. El tratamiento con antirretrovirales debe iniciarse idealmente, antes de que el riesgo de infecciones oportunistas o progresión de la enfermedad sean inminentes, recomendándose su inicio a la mayor brevedad posible en todos los casos con enfermedad crónica sintomática (24). La última guía internacional (25) recomienda el límite de 500 células/mm³ (linfocitos T CD4+) como criterio para iniciar la terapia antirretroviral, aunque en algunos casos (personas infectadas a la vez por VIH y por el virus de la hepatitis B o el de la hepatitis C, personas con parejas que son VIH negativas, personas con más de 50 años, etc.) se recomienda iniciar el tratamiento independientemente del número de células CD4+.

La terapia antirretroviral es capaz de interrumpir la replicación del VIH, con lo que la CV se hace indetectable (< 50 copias/ml), se detiene el deterioro del sistema inmunológico y se recupera la respuesta inmune (26), dando lugar

a una mejora notable en la calidad de vida de estos pacientes. La terapia actual con antirretrovirales debe mantenerse de por vida, ya que con ella no se logra erradicar el genoma viral de los tejidos reservorio (27).

Los fármacos antirretrovirales disponibles en la actualidad (Tabla 1) se clasifican en cinco clases o grupos:

1. Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos/nucleótidos (ITIAN o NRTI en inglés) (28). Interfieren en la segunda etapa del ciclo replicativo del VIH, inhibiendo competitivamente la transcriptasa inversa (el antirretroviral imita estructuralmente los sustratos naturales para la síntesis del ADN) o impidiendo que se añadan nuevos nucleótidos a la cadena de ADN durante el proceso de transcripción.

2. Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos (ITINAN o NNRTI en inglés). Actúan en la misma etapa que los ITIAN, pero inhibiendo la transcriptasa inversa de manera no competitiva, ya que se unen a un punto de la enzima distinto al de unión de los nucleótidos naturales (28).

3. Inhibidores de la proteasa (IP o PIs en inglés). Intervienen inhibiendo la proteasa vírica. El bloqueo de esta enzima impide la fragmentación de la cadena proteica obtenida como consecuencia de la expresión del ADN proviral, obteniéndose copias defectuosas del VIH, que si bien sean capaces de destruir la célula infectada, carecen de capacidad para infectar otras células (29, 30).

4. Inhibidores de la fusión/entrada (IF o FI en inglés) (31). Impiden o dificultan la entrada del virus a la célula CD4+, bloqueando la unión del virus a los receptores localizados en la superficie de los linfocitos.

5. Inhibidores de la integrasa (Int o INSTIs en inglés). Impiden la integración del ADN proviral en el ADN de la célula CD4+.

Tabla 1. Fármacos antirretrovirales comercializados actualmente para el tratamiento del SIDA.

Clase de antirretroviral	Nombre genérico	Sigla	Nombre comercial
ITIAN	Zidovudina	AZT o ZDV	Retrovir®
	Didanosina	ddI	Videx®, Videx EC®
	Zalcitabina	ddC	Hivid®
	Estavudina	d4T	Zerit®, Zerit XR®
	Lamivudina	3TC	Epivir®
	Abacavir	ABC	Ziagen®
	Emtricitabina	FTC	Emtriva®
	Tenofovir disoproxil fumarato	TDF	Viread®
ITINAN	Nevirapina	NVP	Viramune®, Viramune XR®
	Delavirdina	DLV	Rescriptor®
	Efavirenz	EFV	Sustiva®, Stocrin®
	Etravirina	ETR	Intelence®

	Rilpivirina	RPV	Edurant®
IP	Saquinavir	SQV	Invirase®
	Ritonavir	RTV	Norvir®
	Indinavir	IDV	Crixivan®
	Nelfinavir	NLF	Viracept®
	Amprenavir	APV	Agenerase®
	Lopinavir	LPV	Kaletra®
	Atazanavir	ATV	Reyataz®
	Fosamprenavir	FPV o fAPV	Lexiva® (EEUU), Telzir® (UE)
	Tipranavir	TPV	Aptivus®
	Darunavir	DRV	Prezista®
IF	Enfuvirtida	ENF	Fuzeon®
	Maraviroc	MRC	Selzentry® (EEUU), Celsentry® (UE)
Int	Dolutegravir	DTG	Tivicay®
	Elvitegravir	EVG	Stribild®
	Raltegravir	RGV	Isentress®

Los fármacos antirretrovirales administrados individualmente no suprimen la infección por VIH a largo plazo, por lo que deben usarse en combinaciones. Las infecciones por el VIH se tratan generalmente con combinaciones de antirretrovirales que consisten en, al menos, tres antirretrovirales diferentes. Actualmente, los regímenes típicos iniciales de la denominada terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA o en inglés HAART, “highly active antiretroviral therapy”) consisten en combinaciones de tres fármacos. Dos de estos fármacos pertenecen al grupo de los ITIAN, siendo el tercero un ITINAN, un IP potenciado con Ritonavir o un IInt. Las combinaciones de ITIAN de elección en los regímenes de inicio son TDF+FTC (o 3TC) y ABC+3TC (o FTC). En la tabla 2 se muestran las pautas actuales según GeSIDA 2014.

Estas combinaciones disminuyen los niveles de ARN viral y aumentan las células CD4+ en la mayoría de los pacientes (24). Con esta terapia se obtiene una desaceleración sustancial en la progresión de la enfermedad respecto a terapias que utilizan solo uno o dos antirretrovirales, dando lugar a la restauración de la respuesta inmune y retrasando el desarrollo de cepas virales resistentes (32, 33).

Tabla 2. Combinaciones de fármacos antirretrovirales recomendadas en pacientes que inician el tratamiento anti-VIH, según GeSIDA (2014).

Pautas preferentes	
3^{er} fármaco	Combinaciones
ITINAN	TDF+FTC+ EFV TDF+FTC+ RPV
IP/r	TDF+FTC+ ATV/r ABC+3TC+ ATV/r TDF+FTC+ DRV/r
Int	ABC+3TC+ DTG TDF+FTC+ DTG TDF+FTC+ EVG/COBI TDF+FTC+ RGV ABC+3TC+ RGV
Pautas alternativas	
3^{er} fármaco	Combinaciones
ITINAN	ABC+3TC+ EFV TDF+FTC+ NVP
IP/r	ABC+3TC+ DRV/r TDF+FTC+ LPV/r ABC+3TC+ LPV/r

4. Metabolismo y citocromo P450

El sistema del citocromo P-450 (CYP-450) comprende más de 25 isoenzimas humanas, localizadas principalmente en el hígado e implicadas en el metabolismo de agentes xenobióticos y sustancias endógenas. Estas isoenzimas son responsables del metabolismo de muchos fármacos, dando lugar a metabolitos inactivos y, en ocasiones, a fármacos activos a partir de profármacos. Además, están implicadas en la formación de metabolitos reactivos, que pueden ser alergénicos, tóxicos o mutagénicos (34). Las isoenzimas y los genes que las codifican se agrupan en 18 familias y 43 subfamilias. Las principales familias relacionadas con el metabolismo de los fármacos son las familias 1 a 4, destacando las isoenzimas 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 y 3A4.

Algunas interacciones entre fármacos se producen como consecuencia de la alteración del metabolismo a nivel de las isoenzimas del CYP450. Estas interacciones ocurren cuando un fármaco causa una inducción o inhibición de determinadas isoenzimas, alterando el metabolismo de un segundo fármaco.

La inducción enzimática es un proceso lento, ya que debe producirse un incremento en la síntesis de la enzima responsable del metabolismo del fármaco afectado. La inducción enzimática determina un aumento del aclaramiento del fármaco afectado, con la consiguiente reducción de sus niveles plasmáticos y de su semivida de eliminación. Rifampicina, fenobarbital, fenitoina, nevirapina y efavirenz son ejemplos de inductores enzimáticos.

La inhibición enzimática es un proceso inmediato y dependiente de la concentración del fármaco inhibidor. El mecanismo consiste principalmente en la competición por una isoenzima entre el fármaco inhibido y el fármaco

inhibidor. La inhibición enzimática determina un aumento de la concentración del fármaco afectado, una disminución de su aclaramiento y un aumento de la semivida de eliminación. En estos casos puede ser necesario reducir la dosis del fármaco afectado. Lopinavir, indinavir, amprenavir, sulfamidas y efavirenz son ejemplos de inhibidores enzimáticos.

5. Efavirenz (EFV)

El efavirenz es un inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo a los nucleósidos (ITINAN), empleado en el tratamiento de la infección por VIH-1, pero sin eficacia sobre el VIH-2. En la actualidad, el Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (*ECDC*, por sus siglas en inglés) recomienda que se administre como parte de un régimen de tres fármacos que incluya dos ITIAN (por ejemplo, TDF + FTC o ABC + 3TC) en el tratamiento de la infección por VIH.

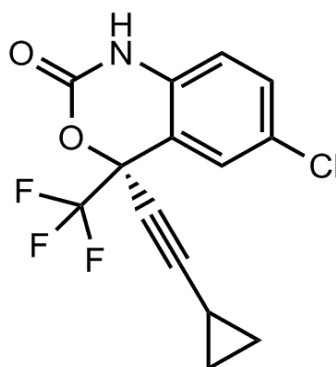


Figura 4. Estructura química del EFV.

El EFV es un sólido cristalino lipofílico no higroscópico, con una alta log P (5,4). Es un ácido débil, con un pKa de 10,2 (35). Es prácticamente insoluble en agua y tiene una solubilidad acuosa < 10 µg/ml (pH 8,3) a 25° C. La solubilidad acuosa aumenta a medida que el pH aumenta por encima de 9, debido a la pérdida del protón en la amina del carbamato (36). Su estructura química se muestra en la Figura 4.

Tabla 3. Preparados comerciales de EFV

Nombre Genérico	Nombre Comercial (Productor)	Formulaciones	Fecha de la aprobación por FDA	Fecha de la aprobación por UE
Efavirenz (EFV)	Sustiva® (Bristol-Myers Squibb)	• Capsulas de 50, 100 y 200 mg	17/9/1998	28/5/1999
	Stocrin® (Merck Sharp & Dohme Ltd)	• Comprimidos de 50, 200 y 600 mg • Solución oral (30 mg/ml)		

El EFV es clasificado como fármaco de clase II (baja solubilidad y alta permeabilidad) según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS) y su biodisponibilidad oral es de aproximadamente 40–50 % (37). Cuando se administra por vía oral, el tiempo hasta alcanzar la concentración plasmática máxima (t_{max}) es de aproximadamente 3-5 horas y las concentraciones plasmáticas en estado estacionario se alcanzan a los 6–7 días del inicio de un

régimen de dosis múltiples. En sujetos infectados por el VIH-1, los valores medios de C_{\max} , C_{\min} y AUC en estado estacionario, son proporcionales a las dosis diarias de 200 mg, 400 mg y 600 mg. En sujetos sanos, las concentraciones plasmáticas máximas de EFV se alcanzan a las 5 horas después de la administración de dosis orales únicas de 100 mg a 1600 mg y son de 1,6-9,1 μM . (0,50–2,87 $\mu\text{g/ml}$) (38). La administración de una dosis única diaria de 600 mg de EFV da lugar a una C_{\max} en estado estacionario de $4,07 \pm 3,7 \mu\text{g/ml}$ (media \pm DE), y una C_{\min} de $1,77 \pm 3,2 \mu\text{g/ml}$ (media \pm DE) (39).

Tabla 4. Parámetros farmacocinéticos de EFV

Dosis (mg)	600, qd
t_{\max} (h)	3-5
C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	4,1
$t_{1/2}$ (h)	52-76, DU; 40-55, DM
CL (L/h)	9,4
Vd (L/Kg)	3,8
F	40–45 %
Unión a proteínas	> 99 %

t_{\max} : tiempo para alcanzar la máxima concentración plasmática (C_{\max}); CL: aclaramiento; Vd: volumen de distribución aparente; F: biodisponibilidad; $t_{1/2}$: semivida; qd (o *quotid*): una vez al día (del latín: *quotidie*); DU: dosis única (600 mg/día); DM: dosis múltiples (200–400 mg/día durante 10 días).

El EFV presenta un alto porcentaje de unión a las proteínas plasmáticas humanas (aproximadamente 99,5-99,75 %), especialmente a la albúmina, lo que limita su distribución a compartimentos extraplasmáticos (39). Alrededor del 14–34 % de una dosis de EFV de 400 mg se excreta en la orina en forma de metabolitos (menos del 1% es inalterado). Su semivida de eliminación es de 52–76 horas tras una dosis única de 600 mg/día y 40–55 horas tras dosis múltiples de 200–400 mg/día durante 10 días (39).

En la tabla 4 se resumen los principales parámetros farmacocinéticos del efavirenz en humanos.

El EFV es metabolizado en el hígado, principalmente por las isoenzimas 3A4 y 2B6, a metabolitos hidroxilados que son inactivos frente al VIH-1. El principal metabolito es el 8-hidroxi-EFV (8-OH-EFV) y la isoenzima 2B6 es la principal responsable de su formación; esta isoenzima también cataliza una segunda hidroxilación del 8-OH-EFV a 8,14-dihidroxi-EFV (8,14-diOH-EFV) (40). El 7-hidroxi-EFV (7-OH-EFV) es un metabolito minoritario del EFV y la isoenzima 2A6 es la responsable de su producción (41).

En algunos animales de laboratorio, como la rata, el principal metabolito del EFV es, también, el 8-OH-EFV. Sin embargo, en la rata no se detecta la formación de 7-OH-EFV ni de 8,14-diOH-EFV (42).

EFV inhibe las isoenzimas 2C9, 2C19 y 3A4 e induce la 3A4, induciendo también su propio metabolismo (24).

Se han detectado interacciones clínicamente importantes cuando el EFV se administra conjuntamente con otros antirretrovirales del grupo de los ITINAN (43) y de los IP (44-46). Sin embargo, no se han citado interacciones entre EFV y los antirretrovirales del grupo de los ITIAN, ya que se metabolizan por otras

vías distintas a las empleadas por el EFV (47). Se han detectado interacciones relevantes también con otras clases de fármacos como, por ejemplo, claritromicina, astemizol, cisaprida, ergotamina y sus derivados, anticonceptivos orales, metadona, anticoagulantes orales, betabloqueantes, antagonistas de los canales de calcio, ketoconazol y quinidina (39).

La FDA clasifica al EFV en la categoría D de medicamentos de riesgo durante el embarazo y, por lo tanto, no se recomienda su uso durante el primer trimestre de embarazo (39). Se considera generalmente un fármaco seguro, aunque su uso está relacionado con síntomas psiquiátricos, hepatotoxicidad y trastornos metabólicos y lipídicos (48, 49). Además de la toxicidad hepática aguda que puede surgir tras el uso de EFV, se ha sugerido recientemente la posibilidad de un daño hepático acumulable en el tiempo debido a su empleo (50). Otros efectos adversos del EFV son las erupciones cutáneas, que suelen aparecer en las primeras dos semanas de tratamiento y tienen una mayor incidencia en los pacientes de edad pediátrica (51).

6. Sertralina (SRT)

La sertralina (SRT) es un potente inhibidor selectivo de la recaptación de la serotonina (ISRS) y se utiliza en el tratamiento de la depresión (52), en el tratamiento de angustia, con o sin agorafobia, en el trastorno obsesivo-compulsivo (53), en el tratamiento del trastorno por estrés post-traumático (54), en los ataques de pánico, en la fobia social (55-57) y en el desorden disfórico premenstrual (58). También se ha demostrado su eficacia en el tratamiento del hipo (59).

La dosis terapéutica inicial de SRT es de 50 mg/día para el tratamiento de la depresión y del trastorno obsesivo-compulsivo. Para el tratamiento de la angustia, del trastorno por estrés post-traumático y del trastorno de ansiedad social, la dosis inicial es de 25 mg/día durante la primera semana de tratamiento, seguida de una dosis de 50 mg/día.

La SRT clorhidrato es un polvo blanco cristalino, poco soluble en agua (aproximadamente 3 mg/ml), etanol y alcohol isopropílico (60). La SRT es una base fuerte con pKa 9,85 (Ref. Drugbank.com). En la figura 5 se muestra la estructura química de la SRT clorhidrato.

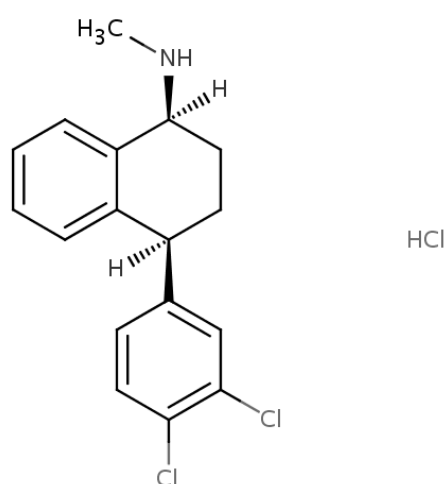


Figura 5. Estructura química de SRT clorhidrato.

La SRT se absorbe a través del tracto gastrointestinal, alcanzado la máxima concentración plasmática 4-8 horas después de la administración de una dosis de 100 mg (61). La concentración plasmática máxima es de 190 ng/ml tras

dosis múltiples de 200 mg/día (62). La biodisponibilidad oral es del 54 % (60) y su volumen de distribución es > 20 L/kg (56). Aproximadamente el 95 % del fármaco presente en el plasma se encuentra unido a las proteínas plasmáticas. La SRT se metaboliza principalmente en el hígado a N-desmetilsertralina, que tiene una actividad farmacológica muy inferior a la de la SRT (63). La semivida de eliminación de la SRT es de 26-32 horas y la del metabolito N-desmetilsertralina es de 60–100 horas.

Las enzimas hepáticas responsables de la biotransformación de la SRT a su metabolito N-desmetilsertralina son: CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, y CYP3A4 (64).

La SRT es un inhibidor moderado de las isoenzimas 2D6 y 2B6 (65) y, por lo tanto, puede dar lugar a un incremento en los niveles plasmáticos de fármacos que sean sustratos de 2D6, como metoprolol, dextrometorfano, desipramina, imipramina, nortriptilina y aloperidol (66-68), o fármacos que sean sustratos de 2B6, como la metadona (69).

El uso conjunto de SRT y EFV da lugar a una reducción significativa en los valores de AUC, C_{\max} y C_{\min} de la SRT, como consecuencia de la inducción de su metabolismo por el EFV, pudiendo ser necesario incrementar la dosis de SRT si la respuesta clínica así lo aconseja (39). El efecto de la SRT sobre el metabolismo del EFV es menos claro. Se ha sugerido una inhibición del metabolismo del EFV por la SRT a partir de estudios *in vitro* (70). Por otra parte, la SRT provoca un incremento del 11 % en la C_{\max} del EFV. No obstante, no se recomienda modificar la dosis de EFV cuando se administra conjuntamente con SRT (39).

La FDA clasifica a la SRT en la categoría C de medicamentos de riesgo durante el embarazo y solo se recomienda su uso cuando los beneficios potenciales justifican los posibles riesgos para el feto (no existen estudios controlados en mujeres embarazadas). Los efectos secundarios asociados con el uso de SRT más comunes son: molestias gastrointestinales (náuseas, diarrea, dispepsia), temblor, vértigo, insomnio, somnolencia, aumento de la sudoración, sequedad de boca y disfunción sexual masculina (60).

7. Nortriptilina (NT)

La nortriptilina (NT) es un antidepresivo tricíclico de segunda generación, que actúa inhibiendo principalmente la recaptación de noradrenalina y serotonina. Se utiliza en el tratamiento de la depresión mayor y de la incontinencia nocturna en niños. También se utiliza en el tratamiento de ataques de pánico, del síndrome de intestino irritable, en la profilaxis de la migraña (71) y en el tratamiento del dolor neuropático (72).

La dosis inicial diaria de la NT en el tratamiento de la depresión es de 75-100 mg, pudiéndose aumentar hasta una dosis máxima de 150 mg/día.

El clorhidrato de NT es un sólido blanco, ligeramente soluble en agua, soluble en alcohol y en cloruro de metileno. Es una base fuerte (pKa 10,5) y su estructura química se muestra en la figura 6.

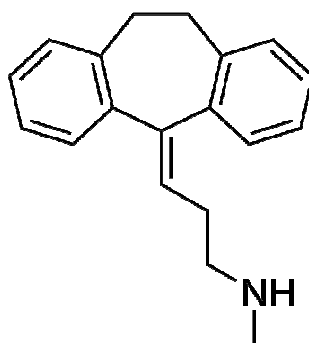


Figura 6. Estructura química de NT

La NT es el principal metabolito activo de la amitriptilina. Se absorbe por vía oral, alcanzando niveles plasmáticos máximos tras 4–6 horas y su semivida plasmática es de, aproximadamente, 12 horas. Las concentraciones plasmáticas de NT que dan lugar a una respuesta terapéutica óptima para conseguir el efecto antidepresivo se encuentran en el intervalo de concentración de 50-150 ng/ml. La biodisponibilidad es del 50-80 % y se une a las proteínas plasmáticas en un 95 %. Se distribuye rápidamente en muchos órganos y fluidos corporales, incluyendo el LCR. La NT se metaboliza en el hígado a 10-hidroxinortriptilina, por acción de las isoenzimas 2D6 y 3A4 (73), y a desmetilnortriptilina por las isoenzimas 2D6, 2C19 y 1A2. Se elimina mayoritariamente con la orina en forma de metabolitos; el 24 % en forma de 10-hidroxinortriptilina.

La NT es un inhibidor de la isoenzima 2D6 y puede incrementar los niveles plasmáticos de fármacos que sean sustratos de esta isoenzima. Hasta el momento no se ha descrito ninguna interacción entre NT y EFV.

No se ha establecido la seguridad de la NT durante el embarazo y, por lo tanto, no se recomienda su administración durante el mismo. La mayoría de los efectos secundarios se deben a su acción farmacológica anticolinérgica: sequedad de boca, sedación, estreñimiento y aumento del apetito, retención urinaria, visión borrosa, trastornos de la acomodación, glaucoma e hipertermia.

8. Rifampicina (RFP)

La rifampicina (RFP) es un antibiótico bactericida perteneciente al grupo de las rifamicinas (74), que actúa inhibiendo la síntesis de ARN bacteriano mediante inhibición de la RNA polimerasa dependiente de DNA (75).

La RFP se utiliza en el tratamiento de la tuberculosis y de la lepra causadas por *Mycobacterium*, en la profilaxis de la meningitis (*Neisseria meningitidis*), así como en el tratamiento de las infecciones oportunistas causadas por *Listeria*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* y *Legionella pneumophila* en individuos infectados por el VIH. Para el tratamiento de la tuberculosis, la dosis de RFP recomendada es de 10 mg/Kg en una sola dosis diaria (máximo 600 mg) en combinación con otros agentes antibacterianos, o 15 mg/kg 2 o 3 veces a la semana (máximo 900 mg) en combinación con otros fármacos antibacterianos. Para el tratamiento de la lepra, se recomienda una dosis de 600 mg una vez al mes en combinación con otros fármacos. Para la infección por *Haemophilus influenzae* tipo B, la dosis de RFP es de 20 mg/kg una vez al día durante 4 días (dosis diaria máxima de 600 mg). En la profilaxis de la meningitis, se recomienda una dosis de 600 mg dos veces al día durante dos días.

La RFP es un sólido cristalino de color marrón rojizo, ligeramente soluble en agua, acetona y etanol y soluble en metanol, cloroformo y acetona. La solubilidad en agua es dependiente del pH: a pH 2 es de 100 mg/ml; a pH 5,3 disminuye a 4 mg/ml y a pH 7,5 se reduce a 2,8 mg/ml. La RFP tiene dos valores de pKa: 1,7 debido al 4-hidroxi y 7,9 por el nitrógeno de la 3-piperazina (76). Se degrada por oxidación en presencia de oxígeno a temperatura ambiente y se debe proteger de la exposición al aire, de la humedad, de la luz y del calor excesivo (40°C o más). En la figura 7 se representa su estructura química.

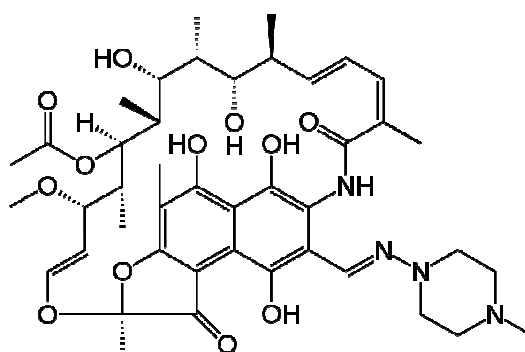


Figura 7. Estructura química de RFP

La RFP se administra por vía oral, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas a las 2–4 horas tras la ingestión (7 µg/ml tras una dosis de 600 mg). Se absorbe en el tracto gastrointestinal y se distribuye en muchos órganos y fluidos corporales, incluyendo el LCR, donde las concentraciones aumentan si las meninges están inflamadas. Su semivida media es de 6–7 horas. La RFP se metaboliza en el hígado, donde es rápidamente desacetilada a metabolitos

activos (25-O-desacetil rifampicina), y se elimina por la bilis y, en menor medida, en la orina.

La RFP induce la UDP-glucuroniltransferasa y también muchas enzimas del CYP450, incluyendo 1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 3A4, 3A5, y 3A7 (77), por lo que aumenta el metabolismo de aquellos fármacos que son metabolizados por estas isoenzimas como, por ejemplo, digoxina, beta bloqueantes, ciclosporina, diazepam, anticonceptivos orales, ketoconazol, metadona, fenitoína, verapamilo, etc.

Se ha observado que la RFP induce el metabolismo del EFV en humanos, dando lugar a disminuciones en los valores de concentración máxima, concentración mínima y área bajo la curva de niveles plasmáticos del 24 %, 25 % y 22 %, respectivamente (78). Los autores del artículo concluyen que sería conveniente incrementar la dosis del EFV, de 600 mg a 800 mg, en los pacientes que reciben concomitantemente RFP.

El efecto inductor enzimático de la RFP en humanos no se ha podido reproducir en ratas utilizando dosis normales del antibiótico (50mg/Kg/día i.p., durante 4 días) (79). En otro estudio con ratas administradas con una dosis elevada de RFP (400 mg/Kg/día p.o., durante 8 días) sí que se observó cierto efecto inductor enzimático (80). No obstante, hasta el momento no se han publicado trabajos en los que se haya podido reproducir en la rata el efecto inductor de la RFP sobre el metabolismo del EFV.

No se han observado alteraciones clínicamente relevantes en la farmacocinética de la RFP debidas a la coadministración de EFV (81).

La FDA clasifica a la RFP en la categoría C de medicamentos de riesgo durante el embarazo y solo se recomienda su uso cuando los beneficios

potenciales justifican los posibles riesgos para el feto. Estudios en ratas y ratones han mostrado efectos embriotóxicos y/o dismorfogénicos. La RFP difunde fácilmente a través de la placenta en un porcentaje del 33 %, alcanzando concentraciones terapéuticas en los tejidos fetales y en el líquido amniótico.

Aunque la RFP es generalmente bien tolerada, los efectos secundarios más frecuentes relacionados con su uso son: dolor abdominal, diarrea, vómitos, cefalea y prurito. Además, produce coloración anaranjada de la orina.

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo ha sido el estudio de interacciones farmacocinéticas potenciales del EFV con fármacos antidepresivos (SRT y NT) y un antibiótico (RFP) empleado frecuentemente en individuos infectados con el virus VIH.

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

Evaluar las modificaciones en los niveles plasmáticos y en los parámetros farmacocinéticos del EFV que pueden producirse como consecuencia de su administración conjunta con SRT o NT, utilizando ratas como animales de experimentación.

Confirmar que las alteraciones en los niveles plasmáticos del EFV coadministrado con SRT o NT son debidas a un efecto inhibidor de estos fármacos antidepresivos sobre el metabolismo del EFV.

Determinar las condiciones experimentales que deben ser aplicadas en ratas con el fin de reproducir en esta especie animal el efecto inductor de la RFP sobre el metabolismo del EFV observado en humanos.

MATERIALES Y METODOS

1. Fármacos y reactivos

El efavirenz (EFV, Sustiva®) se obtuvo de Bristol-Myers Squibb (Madrid, España). La Sertralina (SRT, Aremis®) se obtuvo de Laboratorios Dr. Esteve (Barcelona, España). La rifampicina (RFP, Rifaldin®) se obtuvo de Sanofi-Aventis (Madrid, España). El 8-hidroxyefavirenz (8-OH-EFV) y el 7-hydroxyefavirenz (7-OH-EFV) se obtuvieron de Toronto Research Chemicals (Toronto, Canada). El clorhidrato de nortriptilina (NT), el reactivo 9H-fluoren-9-ylmethyl chloroformate (Fmoc-Cl), la glucosa-6-Fosfato (G6P), la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (β -NADP+), la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y el cloruro magnésico ($MgCl_2$) se obtuvieron de Sigma-Aldrich (Madrid, España). El resto de reactivos y disolventes utilizados fueron de grado analítico.

2. Animales de experimentación

En este trabajo se utilizaron ratas (*Rattus norvergicus*) albinas macho de raza Wistar, de peso comprendido entre 280-310 gramos, y de edad comprendida entre 50-60 días. Los animales fueron criados en el estabulario de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valencia de acuerdo con las condiciones de alojamiento requeridas para estos animales.

2.1. Ensayos *in vivo*

Todos los animales utilizados en los ensayos *in vivo* fueron sometidos a la canulación de la vena yugular derecha y del duodeno (82) con el fin de efectuar la toma de muestras sanguíneas y la administración intraduodenal de los fármacos. La canulación se efectuó el día anterior a la administración intraduodenal. El muestreo sanguíneo (0,25 ml) se realizó a través de la cánula implantada en la vena yugular, utilizando jeringuillas previamente heparinizadas para evitar la coagulación de la sangre. Las muestras sanguíneas se depositaron en tubos eppendorf y se centrifugaron a 2000 g durante 5 minutos para separar el plasma, en el que, posteriormente, se determinaron las concentraciones de los fármacos administrados. Al finalizar los ensayos, los animales se sacrificaron con isoflurano por vía inhalatoria.

2.2. Ensayos *in vitro*

Los ensayos *in vitro* se llevaron a cabo con microsomas hepáticos obtenidos a partir de hígados de ratas Wistar. Para su preparación, se homogeneizó el hígado (4°C) en una solución tampón de fosfato de sodio y potasio 50 mM (pH 7,4), que contenía cloruro potásico (KCl) (1,15 %, p/v), ácido etildiaminotetraacético (EDTA) 2 mM y sacarosa 0,25 M. El homogenado de hígado se centrifugó a 9000 g durante 10 minutos y el sobrenadante resultante se centrifugó a 150000 g durante 1 hora. El sedimento microsomal se resuspendió en una solución tampón de fosfato potásico 0,1 M (pH 7,4). La concentración de proteína microsomal se determinó utilizando el método de Lowry (83).

Con el fin de estudiar la velocidad de formación del principal metabolito del EFV (8-OH-EFV), se efectuaron ensayos metabólicos con microsomas hepáticos de rata utilizando diversas concentraciones de EFV (sustrato). Los ensayos se llevaron a cabo en tubos de vidrio en los que se evaporaron distintos volúmenes de una solución de EFV en metanol (10 µg/ml). Al residuo obtenido se adicionó: microsomas hepáticos (equivalentes a 0,1 mg de proteína), 5 µl de una solución de G6P en agua (20 mg/ml), 5 µl de una solución de β-NADP⁺ en agua (20 mg/ml), 10 µl de una solución de G6PDH en agua (10 U/ml) y 5 µl de una solución de MgCl₂ en agua (13,4 mg/ml). El volumen final se ajustó a 0,1 ml añadiendo tampón fosfato 0.1 M (pH 7,4), obteniéndose las siguientes concentraciones de EFV en la mezcla final: 1, 2,5, 5, 10, 25, 50 y 100 µg/ml. Las muestras se incubaron en un baño, a 37°C, durante 30 minutos. Al finalizar el periodo de incubación se adicionó 0,1 ml de acetonitrilo y se enfriaron las muestras en un baño de hielo. Las muestras desproteinizadas se centrifugaron y el sobrenadante se utilizó para la determinación analítica del metabolito 8-OH-EFV.

Los ensayos de inhibición del metabolismo del EFV se efectuaron de forma similar a la descrita para el estudio de la velocidad de formación del 8-OH-EFV. La concentración de EFV en la mezcla final fue de 5 µg/ml y se adicionaron distintas concentraciones del inhibidor. En todos los casos, el volumen final de la mezcla antes de la incubación fue de 0,1 ml.

3. Diseño de los estudios

3.1. Interacción entre EFV y SRT

3.1.1. Ensayos *in vivo*

Se utilizaron 4 grupos de ratas para estudiar la interacción *in vivo* entre EFV y SRT (Tabla 5). Los animales fueron canulados el día anterior a la administración de los fármacos y permaneciendo en ayunas, con agua *ad libitum*, durante las 12 horas previas a la administración.

Para la administración de los fármacos se emplearon suspensiones en agua destilada (EFV: 10 mg/ml, SRT: 5 mg/ml).

Tabla 5. Grupos de ratas empleados para el estudio de interacción *in vivo* entre EFV y SRT (n = 6)

Grupo	Dosis SRT	Dosis EFV
1	---	10 mg
2	5 mg	---
3	5 mg	10 mg
4	10 mg	10 mg

A los animales del grupo 1 (grupo control EFV) se les administró 1 ml de agua y, 15 minutos más tarde, 1 ml de la suspensión de EFV (dosis = 10 mg) a través de la cánula implantada en el duodeno. A los animales del grupo 2 (grupo control SRT) se les administró 1 ml de la suspensión de SRT (dosis = 5 mg) y, a los 15 minutos, 1 ml de agua. A los animales del grupo 3 se les administró 1 ml de la suspensión de SRT (dosis = 5 mg) y, a los 15 minutos, 1 ml de la suspensión de EFV (dosis = 10 mg). A los animales del grupo 4 se les administró 2 ml de la suspensión de SRT (dosis = 10 mg) y, a los 15 minutos, 1 ml de la suspensión de EFV (dosis = 10 mg).

Con posterioridad a las administraciones, se tomaron 8 muestras sanguíneas en cada uno de los animales a los tiempos indicados en la Figura 8.



Figura 8. Tiempos de muestreo sanguíneo

3.1.2. Ensayos *in vitro*

Se determinó la cantidad de metabolito 8-OH-EFV formado por los microsomas hepáticos de rata en ausencia de SRT y en presencia de las siguientes concentraciones finales de SRT: 0,1, 1, 5, 10, 25 y 50 µg/ml. Los ensayos se repitieron un total de 4 veces.

3.2. Interacción entre EFV y NT

3.2.1. Ensayos *in vivo*

Se utilizaron 3 grupos de ratas para estudiar la interacción entre EFV y NT (Tabla 6). Los animales fueron canulados el día anterior a la administración de los fármacos, permaneciendo en ayunas y con agua *ad libitum* durante las 12 horas previas a la administración.

Para la administración del EFV se empleó una suspensión en agua destilada (10 mg/ml) y para la administración de la NT se utilizó una solución de 5 mg/ml en agua destilada.

Tabla 6. Grupos de ratas empleados para el estudio de la interacción *in vivo* entre EFV y NT (n = 6).

Grupo	Dosis	Dosis
	NT	EFV
5	---	10 mg
6	5 mg	10 mg
7	10 mg	10 mg

La administración del EFV se efectuó 15 minutos después de la administración de 1 ml de agua destilada (grupo 5), 1 ml de la solución de NT (grupo 6) o 2 ml de la solución de NT (grupo 7). Los tiempos de muestreo sanguíneo fueron los indicados en la figura 8.

3.2.2. Ensayos *in vitro*

Se determinó la cantidad de metabolito 8-OH-EFV formado por los microsomas hepático de rata en ausencia de NT y en presencia de las siguientes concentraciones finales de NT: 0,1, 1, 5, 10, 25 y 50 µg/ml. Los ensayos se repitieron un total de 4 veces.

3.3. Interacción entre EFV y RFP

En la tabla 7 se muestran los grupos de ratas empleados para estudiar la interacción *in vivo* entre EFV y RFP.

Tabla 7. Grupos de ratas empleados para el estudio de la interacción *in vivo* entre EFV y RFP (n = 6).

Grupo	Días 1 – 4	Día 5
	Dosis RFP oral	Dosis EFV i.d.
8	---	10 mg
9	20 mg	10 mg
10	40 mg	10 mg
11	80 mg	10 mg

Durante 4 días se administró agua (grupo 8) o una suspensión comercial de RFP (Rifaldin® 2 %, grupos 9, 10 y 11) por vía oral, mediante una sonda gástrica, una vez al día. El cuarto día se canuló la vena yugular y el duodeno de las ratas y en el quinto día se administró intraduodenalmente una dosis de 10 mg de EFV. Los animales permanecieron en ayunas y con agua *ad libitum* durante las 12 horas previas a la administración de EFV. Los tiempos de muestreo sanguíneo contados a partir de la administración del EFV fueron los siguientes: 15 minutos, 30 minutos, 1, 2, 3, 4, 6 y 8 horas.

4. Métodos analíticos

Las determinaciones analíticas de las concentraciones de EFV, SRT y RFP en las muestras plasmáticas, así como de las concentraciones del metabolito 8-OH-EFV en las muestras de microsomas, se efectuaron mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

Se construyó una curva de calibración para cada uno de los analitos, representando el área del pico cromatográfico respecto a la concentración del analito, y se determinó el límite de cuantificación a partir de la concentración del analito que dio lugar a un pico 10 veces superior al ruido de fondo cromatográfico.

4.1. EFV

Para la valoración del EFV presente en las muestras plasmáticas se empleó un cromatógrafo líquido-líquido de alta eficacia (HPLC) *Thermo Scientific*, dotado de bomba binaria programable *Thermo Scientific SpectraSystem P4000*, inyector automático *Thermo Scientific SpectraSystem AS3000* y detector-registrador espectrofotométrico de longitud de onda variable, *Thermo Electron Corporation Finnigan SpectraSystem UV6000LP*, ajustado a 254 nm. La fase estacionaria utilizada fue una columna de fase inversa *Nova-Pak C-18* (3,9 mm x 150 mm, 4 µm) con precolumna. Como fase móvil se utilizó una mezcla de acetonitrilo y una solución acuosa de fosfato sódico dihidrato (0,78 % m/v) en las proporciones 55/45 (v/v), con un flujo de 1 ml/min. Previamente a la inyección en el cromatógrafo, las muestras plasmáticas (100 µl) se desproteinizaron con 100 µl de acetonitrilo y se inyectó en el cromatógrafo un volumen de 20 µl.

4.2. 8-OH-EFV

La determinación de la concentración de 8-OH-EFV en las muestras de microsomas hepáticos se efectuó con el mismo equipo utilizado para la determinación de EFV, pero la proporción de los componentes de la fase móvil se modificó a 50/50 (v/v). Al igual que en el caso de las muestras plasmáticas, las muestras de microsomas se desproteinizaron con acetonitrilo, a partes iguales, previamente a la inyección en el cromatógrafo.

4.3. SRT

Para la cuantificación de la SRT en las muestras plasmáticas se empleó un método cromatográfico con detección fluorimétrica (84). Se utilizó la detección fluorimétrica con el fin de lograr una sensibilidad suficiente para cuantificar las concentraciones plasmáticas de SRT. El sistema cromatográfico consistió en una bomba *Waters™ S15*, un inyector manual *Rheodyne®* y un detector de fluorescencia *Hewlett Packard 1046-A*. Como fase estacionaria se empleó una columna de fase inversa *Nova-Pak C-18* (3,9 mm x 150 mm, 4 µm) con precolumna y en el detector de fluorescencia se seleccionó una longitud de onda de excitación de 260 nm y una longitud de onda de emisión de 310 nm. La fase móvil consistió en una mezcla de acetonitrilo y agua (76/24, v/v) y el flujo fue de 1 ml/min.

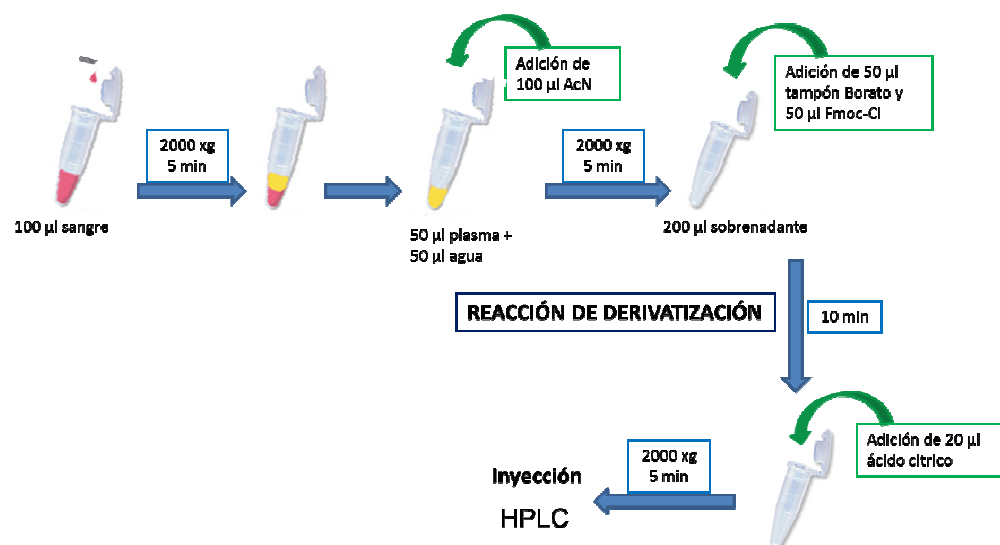


Figura 9. Representación esquemática del procesamiento de las muestras plasmáticas de SRT.

Debido a que la molécula de SRT no es fluorescente *per se*, fue necesario obtener un derivado fluorescente como se indica a continuación. Las muestras plasmáticas (50 µl) se desproteinizaron con 200 µl de acetonitrilo y se centrifugaron a 2000 g durante 5 minutos. Seguidamente, se decantaron 200 µl del sobrenadante a otro tubo eppendorf y se sometieron al proceso de derivatización, adicionando 50 µl de una solución de borato sódico 0,1 M (pH 7) y 50 µl de una solución de Fmoc-Cl (1 mg/ml) en acetonitrilo. El Fmoc-Cl se utilizó por su capacidad en reaccionar con el grupo amino de la SRT y formar un derivado fluorescente detectable por HPLC. A los 10 minutos de la reacción de derivatización, se adicionaron 20 µl de una solución de ácido cítrico (20 % m/v), se centrifugó la mezcla y se inyectó en el cromatógrafo un volumen de 25 µl.

4.4. RFP

La valoración de la RFP en las muestras plasmáticas se llevó a cabo utilizando el mismo equipo cromatográfico descrito para la determinación de EFV, con las siguientes modificaciones: la longitud de onda seleccionada para la detección de RFP fue 334 nm y la fase móvil consistió en una mezcla de acetonitrilo y una solución acuosa de fosfato sódico dihidrato (0,78 % m/v) en las proporciones 30/70 (v/v).

5. Métodos farmacocinéticos y estadísticos

A partir de las concentraciones plasmáticas de los fármacos ensayados, y utilizando el programa *WinNonlin* (versión 5.1), se determinaron los valores de los siguientes parámetros farmacocinéticos: semivida ($t_{1/2}$), concentración plasmática máxima (C_{max}), tiempo hasta alcanzar la concentración plasmática máxima (t_{max}), área bajo la curva concentración-tiempo desde tiempo cero hasta el último tiempo de muestreo (AUC_{last}) y hasta infinito ($AUC_{0-\infty}$).

A partir de las velocidades iniciales de formación del metabolito 8-OH-EFV determinadas con los microsomas hepáticos de rata, se obtuvo la curva correspondiente a la cinética de Michaelis-Menten, se efectuó la transformación lineal de Lineweaver-Burk y se determinaron los valores de la velocidad máxima (V_{max}) y de la constante de Michaelis-Menten (K_m) correspondientes a la formación del metabolito.

En los ensayos de inhibición *in vitro* se determinó la disminución de la velocidad de formación del metabolito 8-OH-EFV en función de la concentración de inhibidor. A partir de la gráfica correspondiente, se estimó la concentración de inhibidor que reduce en un 50 % la velocidad de formación del metabolito 8-OH-EFV (CI_{50}).

Para el tratamiento estadístico de los resultados se utilizó la prueba ANOVA de un factor y la prueba de Tukey. Se consideró que la diferencia entre medias era estadísticamente significativa cuando el nivel de significación proporcionado por la prueba estadística fue inferior al 5 % ($p < 5\%$).

RESULTADOS

1. Evaluación del método analítico

1.1. EFV y 8-OH-EFV

Con los métodos analíticos descritos, los picos correspondientes al EFV y al metabolito 8-OH-EFV aparecen en los cromatogramas completamente separados de otros componentes presentes en el plasma o en los microsomas, respectivamente (Figuras 10 y 11).

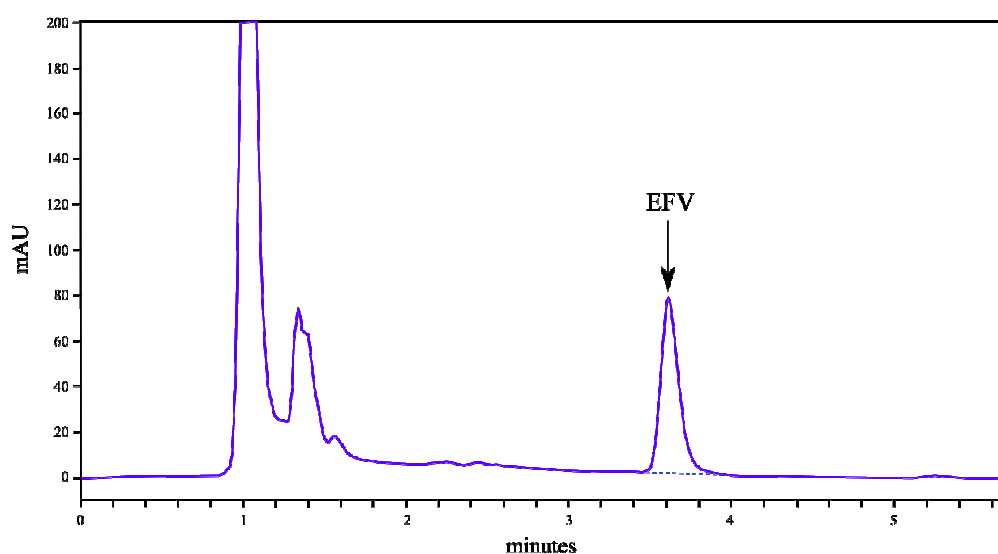


Figura 10. Cromatograma correspondiente a un patrón de EFV en plasma de rata (6 µg/ml).

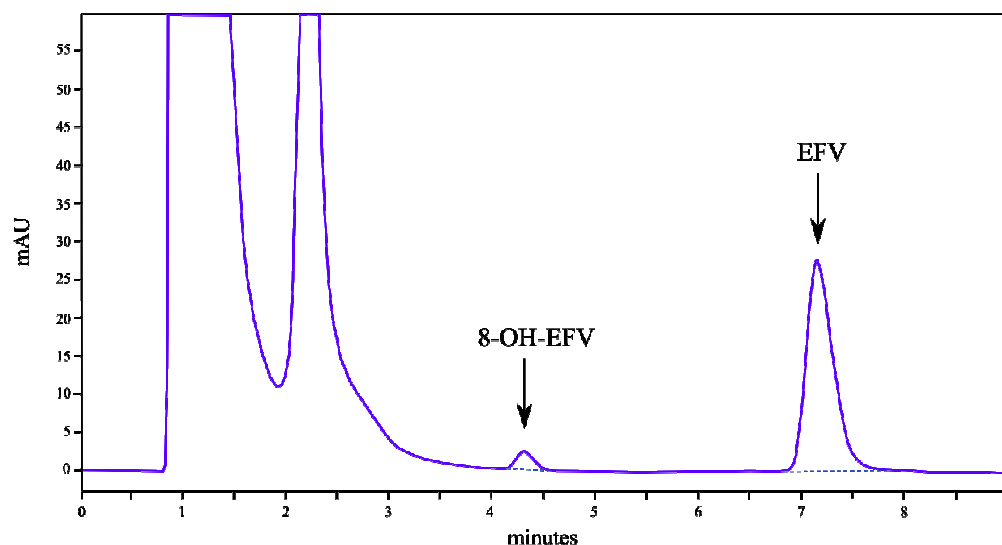


Figura 11. Cromatograma correspondiente a la determinación del metabolito 8-OH-EFV (0,23 $\mu\text{g/ml}$) en una muestra de microsomas hepáticos de rata incubados con EFV (5 $\mu\text{g/ml}$).

Las curvas de calibración obtenidas para el EFV y el 8-OH-EFV presentaron un trazado lineal en el intervalo de concentraciones de 0,5 a 100 $\mu\text{g/ml}$. El límite de cuantificación del EFV y del 8-OH-EFV fue, en ambos casos, de aproximadamente 0,05 $\mu\text{g/ml}$.

1.2. SRT

Los cromatogramas correspondientes a las muestras plasmáticas de SRT mostraron un gran número de picos hasta, aproximadamente, el minuto 7 (Figura 12). Sin embargo, el pico correspondiente al derivado fluorescente de SRT apareció en el cromatograma completamente separado de dichos picos, lo que permitió su cuantificación.

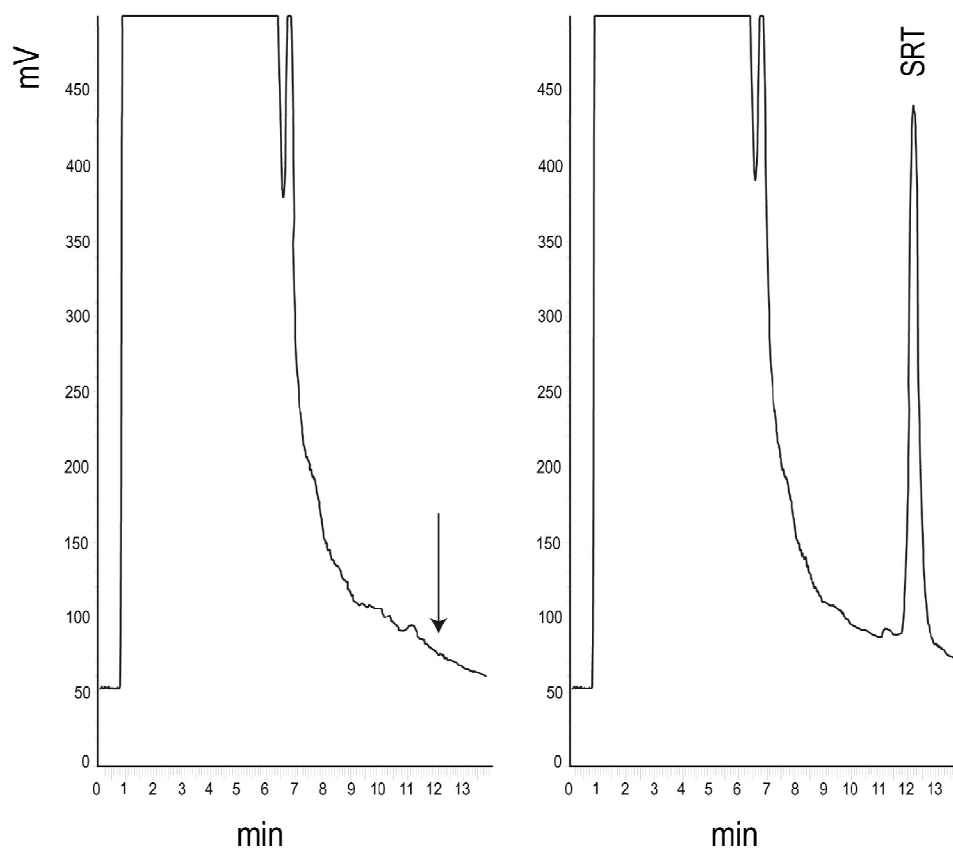


Figura 12. Cromatogramas correspondientes a un blanco de plasma y a un patrón de SRT en plasma de rata (500 ng/ml).

Se observó una relación lineal entre el área del pico cromatográfico y la concentración de SRT en el intervalo de concentraciones 10-500 ng/ml y el límite de cuantificación se estableció en, aproximadamente, 10 ng/ml.

1.3. RFP

Los cromatogramas correspondientes a las muestras plasmáticas de RFP mostraron una completa separación del pico de la RFP en relación al resto de picos del cromatograma (Figura 13).

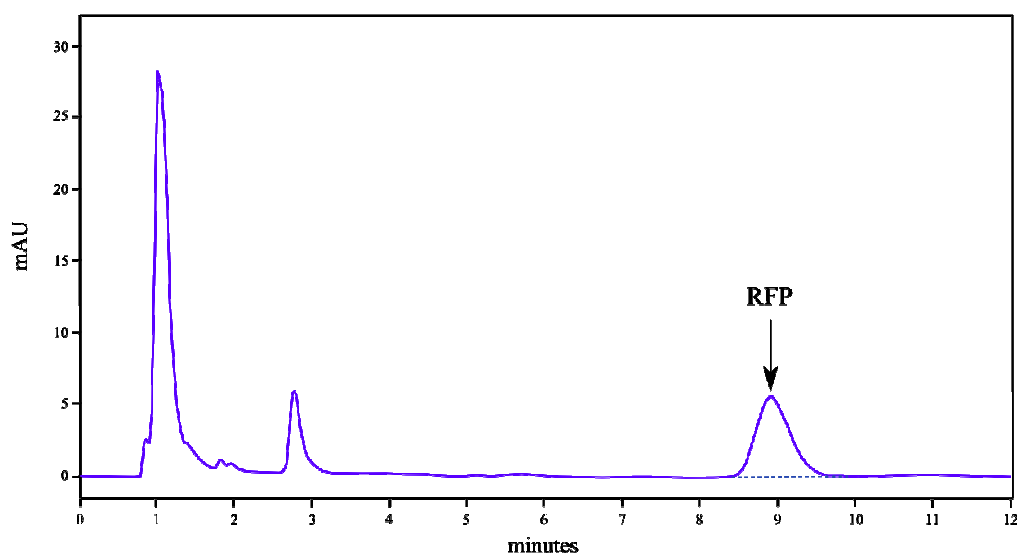


Figura 13. Cromatograma correspondiente a un patrón de RFP (3 $\mu\text{g/ml}$) en plasma de rata.

El método presentó linealidad entre áreas de picos y concentraciones de RFP en el intervalo de 0,5-200 $\mu\text{g/ml}$ y el límite de cuantificación se estableció en 0,3 $\mu\text{g/ml}$.

2. Interacción entre EFV, SRT y NT

2.1. Administración intraduodenal de EFV y SRT

2.1.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV

En la tabla 8 y en las figuras 14A y 14B se muestran los niveles plasmáticos medios de EFV obtenidos en los animales administrados por vía intraduodenal con EFV (grupo 1, control EFV) y EFV y SRT (grupos 3 y 4). Como se observa en la figura 14, la administración de SRT dio lugar a niveles plasmáticos más elevados de EFV, siendo mayores los niveles de EFV en el grupo al que se administró la dosis mayor de SRT (grupo 4).

Tabla 8. Niveles plasmáticos de EFV (media \pm desviación estándar) obtenidos tras su administración intraduodenal a los animales de los grupos 1, 3 y 4 (n = 6). Valores de concentración en $\mu\text{g/ml}$.

Tiempo (min)	Grupo 1 (EFV 10 mg)	Grupo 3 (SRT 5 mg + EFV 10 mg)	Grupo 4 (SRT 10 mg + EFV 10 mg)
15	0,86 \pm 0,35	1,21 \pm 0,75	1,55 \pm 0,94
30	1,58 \pm 0,71	1,76 \pm 0,67	2,08 \pm 0,55
60	1,59 \pm 0,28	1,94 \pm 0,57	2,91 \pm 0,36
120	1,55 \pm 0,25	2,07 \pm 0,46	2,89 \pm 0,82
180	1,26 \pm 0,27	1,67 \pm 0,33	2,41 \pm 0,57
240	0,92 \pm 0,30	1,22 \pm 0,37	1,89 \pm 0,46
360	0,61 \pm 0,18	0,69 \pm 0,27	1,20 \pm 0,24
465	0,36 \pm 0,09	0,46 \pm 0,27	0,71 \pm 0,13

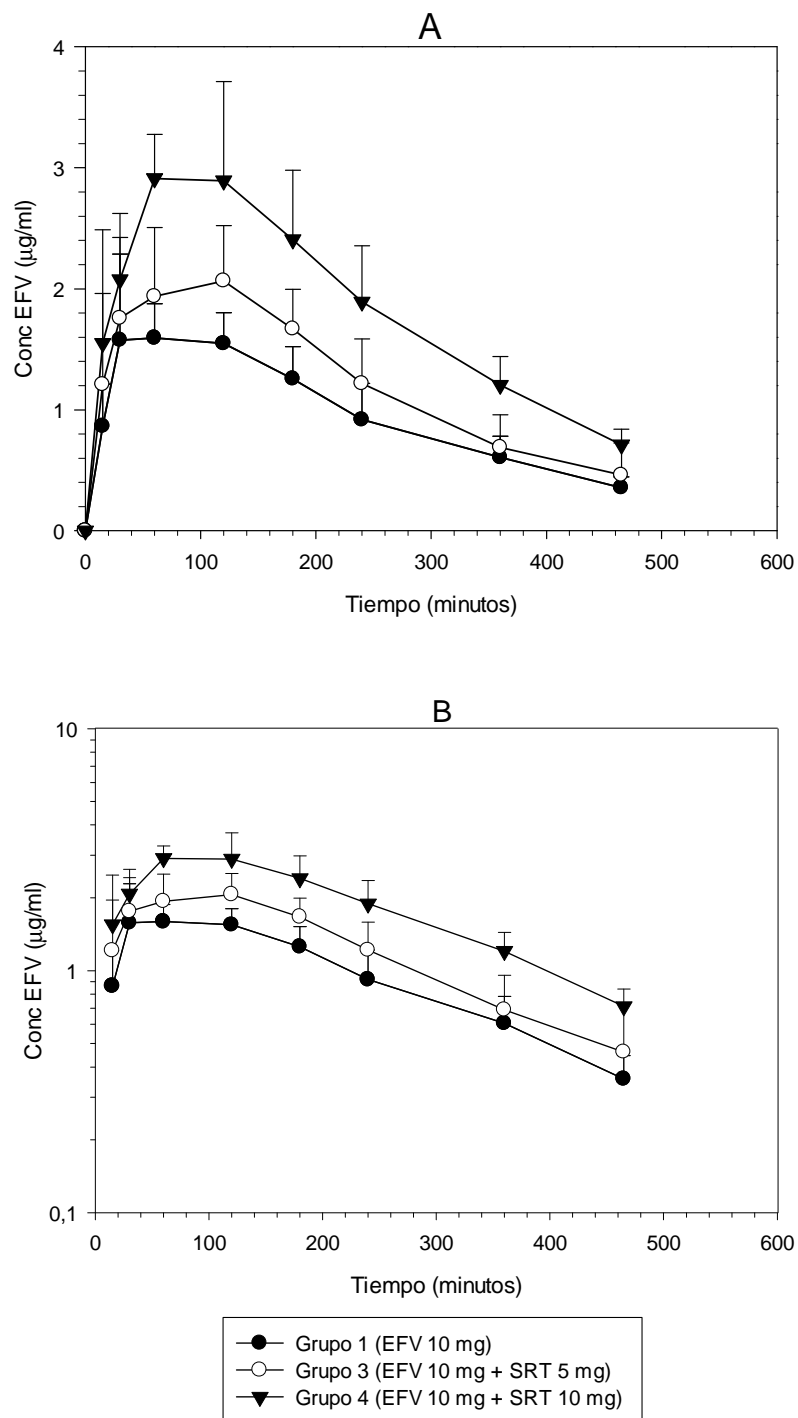


Figura 14. Niveles plasmáticos medios de EFV obtenidos en los animales de los grupos 1, 3 y 4. Se muestra la representación en una gráfica con escalas lineales (A) y en una gráfica semilogarítmica (B).

En la tabla 9 se muestran los valores medios de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los tres grupos de animales. La comparación estadística mostró diferencias significativas entre los valores medios de C_{\max} , AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ del grupo 4 y los correspondientes valores del grupo 1 (grupo control).

Tabla 9. Valores medios (\pm desviación estándar) de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los grupos 1, 3 y 4 y comparación estadística. Los distintos parámetros se expresan en las siguientes unidades: t_{\max} y $t_{1/2}$ en min, C_{\max} en $\mu\text{g/ml}$, AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ en $\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$.

Parámetros	Grupo 1 (EFV 10 mg)	Grupo 3 (SRT 5 mg + EFV 10 mg)	Grupo 4 (SRT 10 mg + EFV 10 mg)	ANOVA
t_{\max}	80,00 \pm 45,17	85,00 \pm 39,87	90,00 \pm 32,86	NS
C_{\max}	1,81 \pm 0,53 ^a	2,29 \pm 0,65 ^{a,b}	3,16 \pm 0,55 ^b	0,004
$t_{1/2}$	144,58 \pm 38,79	165,45 \pm 68,16	160,49 \pm 4,01	NS
AUC_{last}	466,66 \pm 103,91 ^a	575,81 \pm 139,45 ^a	843,18 \pm 178,14 ^b	0,001
$AUC_{0-\infty}$	539,80 \pm 100,24 ^a	714,94 \pm 197,45 ^a	1009,21 \pm 185,24 ^b	0,001

NS: diferencias estadísticamente no significativas; ^{a, b}: letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos.

2.1.2. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de SRT

En la tabla 10 y en las figuras 15A y 15B se muestran los niveles plasmáticos medios de SRT obtenidos en los animales administrados por vía intraduodenal con SRT (grupo 2, control SRT) y EFV y SRT (grupos 3 y 4).

Tabla 10. Niveles plasmáticos de SRT (media \pm desviación estándar) obtenidos tras su administración intraduodenal a los animales de los grupos 2, 3 y 4 (n = 6). Valores de concentración en ng/ml.

Tiempo (min)	Grupo 2 (SRT 5 mg)	Grupo 3 (SRT 5 mg + EFV 10 mg)	Grupo 4 (SRT 10 mg + EFV 10 mg)
30	173,20 \pm 59,42	209,47 \pm 42,20	456,23 \pm 152,45
45	227,80 \pm 83,34	212,75 \pm 33,60	506,39 \pm 186,44
75	257,90 \pm 73,03	244,01 \pm 43,45	535,96 \pm 237,56
135	219,65 \pm 109,20	254,32 \pm 63,08	475,49 \pm 138,74
195	197,11 \pm 96,44	228,38 \pm 34,24	447,12 \pm 132,31
255	194,21 \pm 71,32	210,18 \pm 56,65	384,62 \pm 43,64
375	164,97 \pm 90,64	203,63 \pm 67,00	326,97 \pm 93,21
480	148,28 \pm 81,37	184,32 \pm 116,43	273,25 \pm 64,05

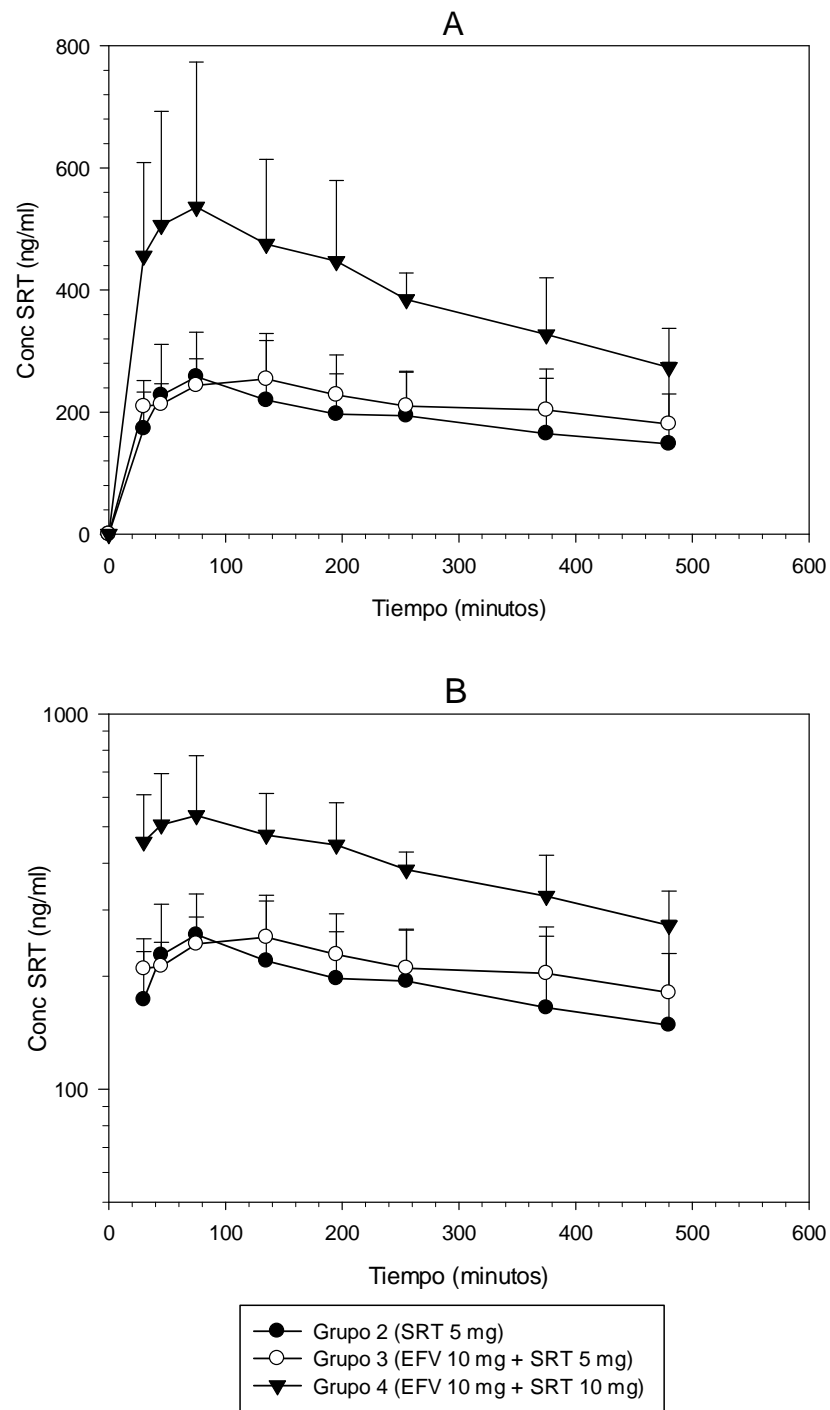


Figura 15. Niveles plasmáticos medios de SRT obtenidos en los animales de los grupos 2, 3 y 4. Se muestra la representación en una gráfica con escalas lineales (A) y en una gráfica semilogarítmica (B).

En la tabla 11 se muestran los valores medios de los parámetros farmacocinéticos de SRT obtenidos en los distintos grupos de animales. La comparación estadística no mostró diferencias significativas entre los valores medios de los parámetros farmacocinéticos de los grupos 3 y 4 y los correspondientes valores del grupo control.

Tabla 11. Valores medios (\pm desviación estándar) de los parámetros farmacocinéticos de SRT obtenidos en los grupos 2, 3 y 4 y comparación estadística. Los distintos parámetros se expresan en las siguientes unidades: t_{\max} y $t_{1/2}$ en min, C_{\max} en ng/ml, AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ en $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$.

Parámetros	Grupo 2 (SRT 5 mg)	Grupo 3 (SRT 5 mg + EFV 10 mg)	Grupo 4 (SRT 10 mg + EFV 10 mg)	ANOVA
t_{\max}	137,50 \pm 168,22	87,50 \pm 40,71	85,00 \pm 85,73	NS
C_{\max}	286,34 \pm 65,44	281,16 \pm 37,82	624,35 \pm 183,22	NS
$t_{1/2}$	388,20 \pm 227,00	473,07 \pm 212,00	490,46 \pm 183,85	NS
AUC_{last}	89,45 \pm 31,45	93,04 \pm 24,28	180,15 \pm 34,17	NS
$AUC_{0-\infty}$	160,47 \pm 86,17	167,24 \pm 69,25	386,15 \pm 115,78	NS

NS: diferencias no estadísticamente significativas. En el caso del grupo 4, se compararon los valores de los parámetros C_{\max} , AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ normalizados para una dosis de 5 mg de SRT. En el caso del grupo 3, solo se dispuso de tres valores individuales de $t_{1/2}$ y $AUC_{0-\infty}$.

2.2. Administración intraduodenal de EFV y NT

2.2.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV

En la tabla 12 y en las figuras 16A y 16B se muestran los niveles plasmáticos medios de EFV obtenidos en los animales administrados por vía intraduodenal con EFV (grupo 5, control EFV) y EFV y NT (grupos 6 y 7). Como se observa en la figura 16, la administración de NT dio lugar a niveles plasmáticos más elevados de EFV, siendo mayores los niveles de EFV en el grupo al que se administró la dosis mayor de NT (grupo 7).

Tabla 12. Niveles plasmáticos de EFV (media \pm desviación estándar) obtenidos tras su administración intraduodenal a los animales de los grupos 5, 6 y 7 (n = 6). Valores de concentración en $\mu\text{g/ml}$.

Tiempo (min)	Grupo 5 (EFV 10 mg)	Grupo 6 (NT 5 mg + EFV 10 mg)	Grupo 7 (NT 10 mg + EFV 10 mg)
15	0,96 \pm 0,33	0,40 \pm 0,24	0,48 \pm 0,44
30	1,54 \pm 0,43	1,39 \pm 0,62	1,09 \pm 0,77
60	1,89 \pm 0,76	2,15 \pm 0,60	2,45 \pm 1,01
120	1,35 \pm 0,40	2,14 \pm 0,66	3,15 \pm 0,94
180	1,20 \pm 0,21	1,79 \pm 0,79	2,43 \pm 0,72
240	1,06 \pm 0,18	1,57 \pm 0,72	1,97 \pm 0,43
360	0,64 \pm 0,18	1,10 \pm 0,55	1,19 \pm 0,18
465	0,44 \pm 0,19	0,58 \pm 0,27	0,86 \pm 0,20

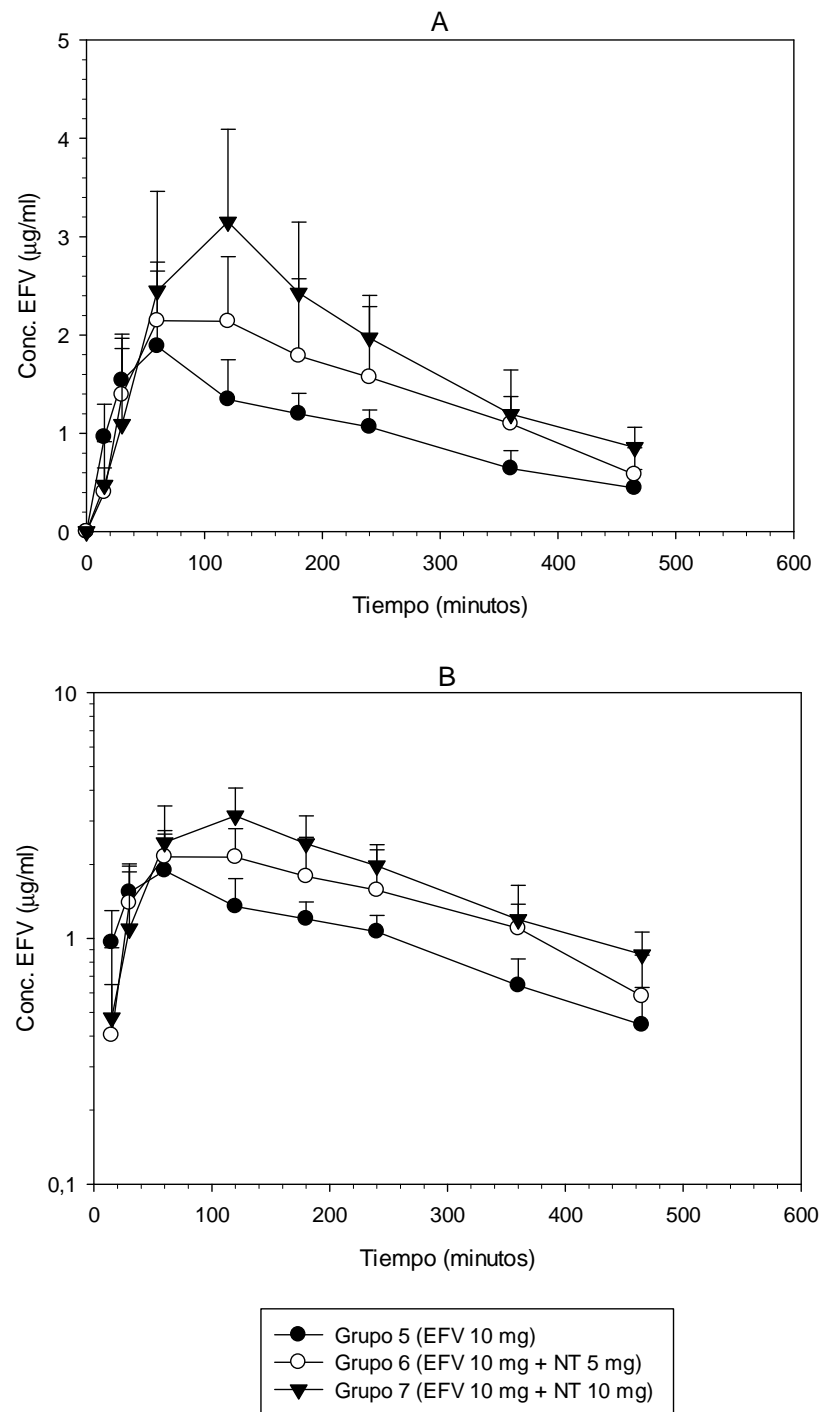


Figura 16. Niveles plasmáticos medios de EFV obtenidos en los animales de los grupos 5, 6 y 7. Se muestra la representación en una gráfica con escalas lineales (A) y en una gráfica semilogarítmica (B).

En la tabla 13 se muestran los valores medios de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los tres grupos de animales. La comparación estadística mostró diferencias significativas entre los valores medios de C_{\max} , AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ del grupo 7 y los correspondientes valores del grupo 5 (grupo control).

Tabla 13. Valores medios (\pm desviación estándar) de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los grupos 5, 6 y 7 y comparación estadística. Los distintos parámetros se expresan en las siguientes unidades: t_{\max} y $t_{1/2}$ en min, C_{\max} en $\mu\text{g/ml}$, AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ en $\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$.

Parámetros	Grupo 5 (EFV 10 mg)	Grupo 6 (NT 5 mg + EFV 10 mg)	Grupo 7 (NT 10 mg + EFV 10 mg)	ANOVA
t_{\max}	92,50 \pm 79,61	80,00 \pm 30,98	110,00 \pm 24,49	NS
C_{\max}	2,09 \pm 0,53 ^a	2,30 \pm 0,58 ^{a, b}	3,20 \pm 0,91 ^b	0,033
$t_{1/2}$	159,78 \pm 36,19	186,04 \pm 43,14	192,83 \pm 36,26	NS
AUC_{last}	478,39 \pm 30,62 ^a	652,80 \pm 248,61 ^{a, b}	821,78 \pm 208,67 ^b	0,022
$AUC_{0-\infty}$	583,29 \pm 85,17 ^a	822,17 \pm 306,65 ^{a, b}	1056,72 \pm 247,85 ^b	0,011

NS: diferencias no estadísticamente significativas; ^{a, b}: letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos.

2.3. Ensayos *in vitro*

En la tabla 14 se muestran las velocidades iniciales (media \pm desviación estándar) de formación del metabolito 8-OH-EFV determinadas con los microsomas hepáticos de rata a partir de distintas concentraciones de EFV. En la figura 17 se representa la curva correspondiente a la cinética de Michaelis-Menten.

Tabla 14. Valores medios (\pm desviación estándar) de las velocidades iniciales de formación del metabolito 8-OH-EFV.

EFV ($\mu\text{g/ml}$)	8-OH-EFV ($\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{mgProteína})$)
1	$0,098 \pm 0,013$
2,5	$0,239 \pm 0,015$
5	$0,445 \pm 0,050$
10	$0,619 \pm 0,035$
25	$1,146 \pm 0,064$
50	$1,309 \pm 0,037$
100	$1,318 \pm 0,051$

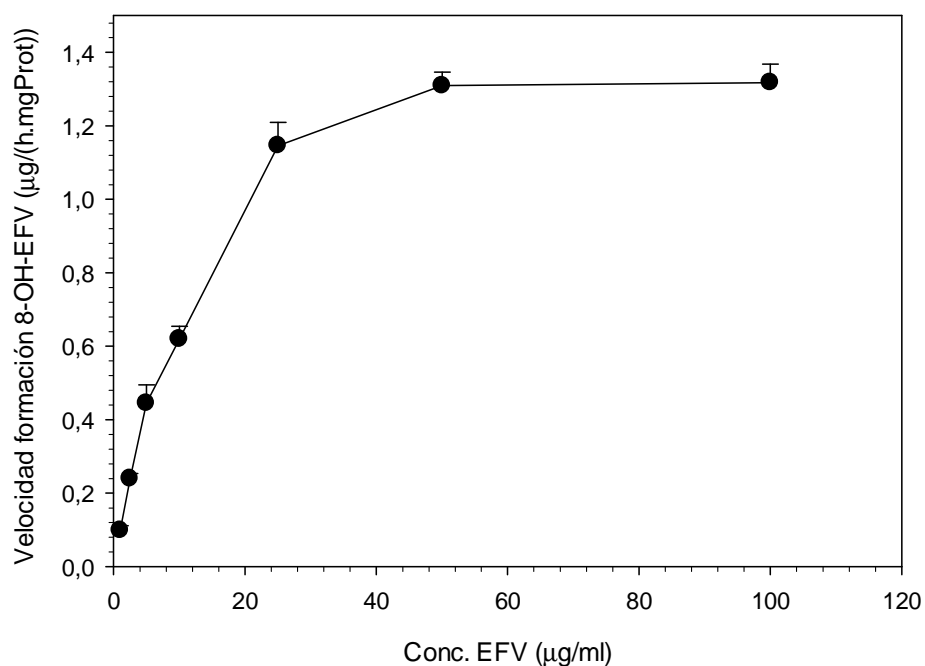


Figura 17. Representación gráfica de la cinética de Michaelis-Menten correspondiente a la formación del metabolito 8-OH-EFV.

En la tabla 15 y en la figura 18 se muestran los valores y la representación gráfica correspondientes a la transformación de Lineweaver-Burk. A partir de la representación de Lineweaver-Burk se determinó la velocidad máxima ($V_{\max} = 1,92 \mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{mgProteína})$) y la constante de Michaelis-Menten ($K_m = 18,60 \mu\text{g}/\text{ml}$) correspondientes a la formación del metabolito 8-OH-EFV.

Tabla 15. Valores de los inversos de las concentraciones de EFV y de la velocidad de formación del metabolito 8-OH-EFV (media \pm desviación estándar) utilizados para el cálculo de V_{\max} y K_m

1/Conc. EFV (1/($\mu\text{g/ml}$))	1/Velocidad formación 8-OH-EFV (1/($\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{mgProteína}))$)
1	10,32 \pm 1,43
0,4	4,19 \pm 0,26
0,2	2,27 \pm 0,27
0,1	1,62 \pm 0,09
0,04	0,87 \pm 0,05
0,02	0,76 \pm 0,02
0,01	0,76 \pm 0,03

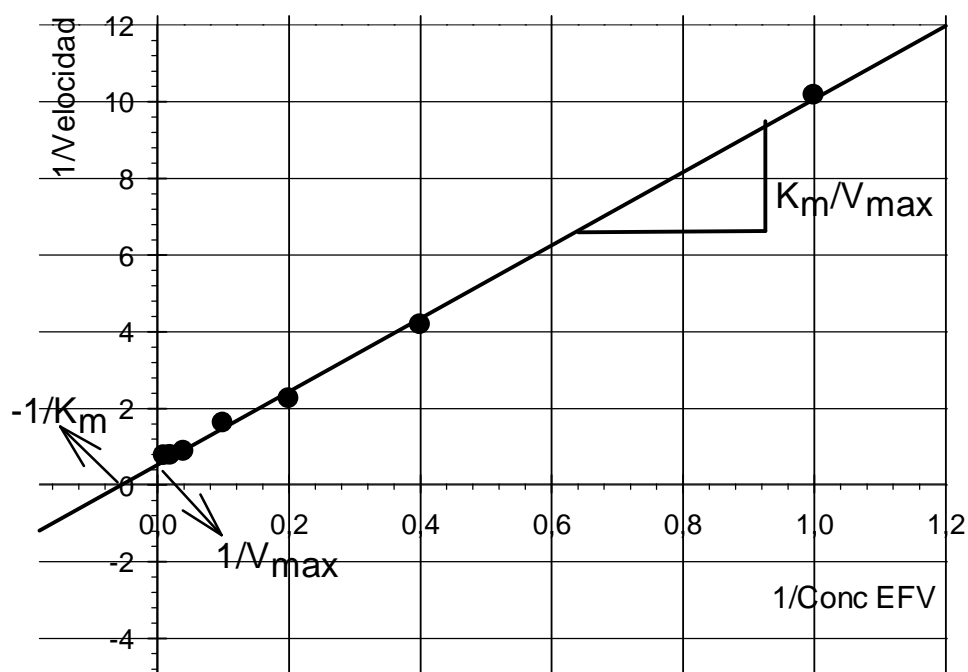


Figura 18. Representación gráfica de Lineweaver-Burk correspondiente a la formación del metabolito 8-OH-EFV.

En las tablas 16 y 17 y en la figura 19 se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de inhibición *in vitro* del metabolismo del EFV. A partir de las curvas de inhibición, se determinaron las concentraciones inhibitorias de la SRT ($CI_{50} = 35 \mu\text{g/ml}$) y de la NT ($CI_{50} = 3,5 \mu\text{g/ml}$).

Tabla 16. Valores correspondientes a la disminución de la velocidad de formación del 8-OH-EFV en función de la concentración de SRT.

SRT ($\mu\text{g/ml}$)	% control \pm DE
0,1	92,72 \pm 4,42
1	91,53 \pm 5,07
5	87,86 \pm 7,50
10	78,57 \pm 8,06
25	58,03 \pm 8,69
50	37,98 \pm 2,82

Tabla 17. Valores correspondientes a la disminución de la velocidad de formación del 8-OH-EFV en función de la concentración de NT.

NT ($\mu\text{g/ml}$)	% control \pm DE
0,1	89,28 \pm 0,99
1	79,87 \pm 1,13
5	33,32 \pm 0,78
10	21,88 \pm 1,81
25	10,57 \pm 1,95
50	6,23 \pm 0,06

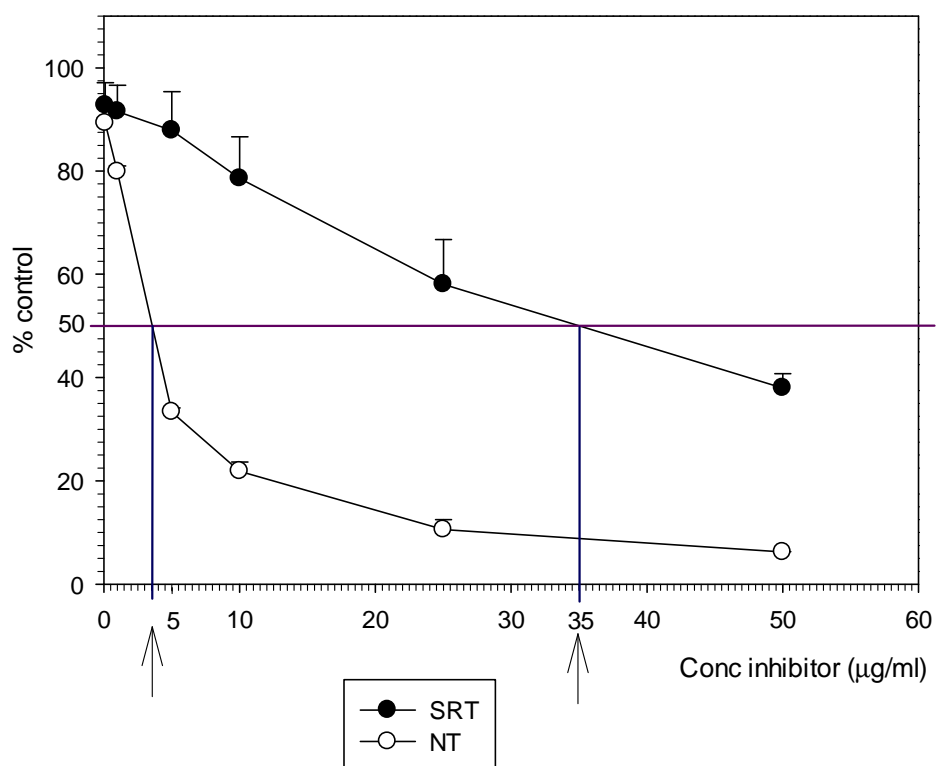


Figura 19. Representación gráfica correspondiente a la disminución de la velocidad de formación del 8-OH-EFV en función de la concentración de inhibidor.

3. Interacción entre EFV y RFP

3.1. Administración intraduodenal de EFV y RFP

3.1.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV

En la tabla 18 y en las figuras 20A y 20B se muestran los niveles plasmáticos medios de EFV obtenidos en los animales administrados por vía intraduodenal con EFV (grupo 8, control EFV) y EFV y RFP (grupos 9 a 11). Como se observa en la figura 20, la administración de RFP dio lugar a niveles plasmáticos más bajos de EFV (grupos 10 y 11), siendo menores los niveles de EFV en el grupo al que se administró la dosis mayor de RFP (grupo 11).

Tabla 18. Niveles plasmáticos de EFV (media \pm desviación estándar) obtenidos tras su administración intraduodenal a los animales de los grupos 8, 9, 10 y 11 (n = 6). Valores de concentración en $\mu\text{g/ml}$.

Tiempo (min)	Grupo 8 (EFV 10 mg)	Grupo 9 (RFP p.o. 20 mg + EFV 10 mg)	Grupo 10 (RFP p.o. 40 mg + EFV 10 mg)	Grupo 11 (RFP p.o. 80 mg + EFV 10 mg)
15	1,50 \pm 0,60	1,64 \pm 0,46	0,98 \pm 0,51	1,08 \pm 0,12
30	1,78 \pm 0,44	1,83 \pm 0,46	1,15 \pm 0,60	1,11 \pm 0,23
60	1,80 \pm 0,50	1,69 \pm 0,64	1,10 \pm 0,44	0,87 \pm 0,34
120	1,50 \pm 0,66	1,28 \pm 0,47	1,01 \pm 0,25	0,67 \pm 0,29
180	1,12 \pm 0,49	1,21 \pm 0,43	1,11 \pm 0,42	0,54 \pm 0,37
240	0,88 \pm 0,40	0,88 \pm 0,28	0,87 \pm 0,23	0,44 \pm 0,30
360	0,42 \pm 0,17	0,31 \pm 0,12	0,42 \pm 0,17	0,19 \pm 0,12
480	0,23 \pm 0,07	0,16 \pm 0,09	0,20 \pm 0,11	0,11 \pm 0,05

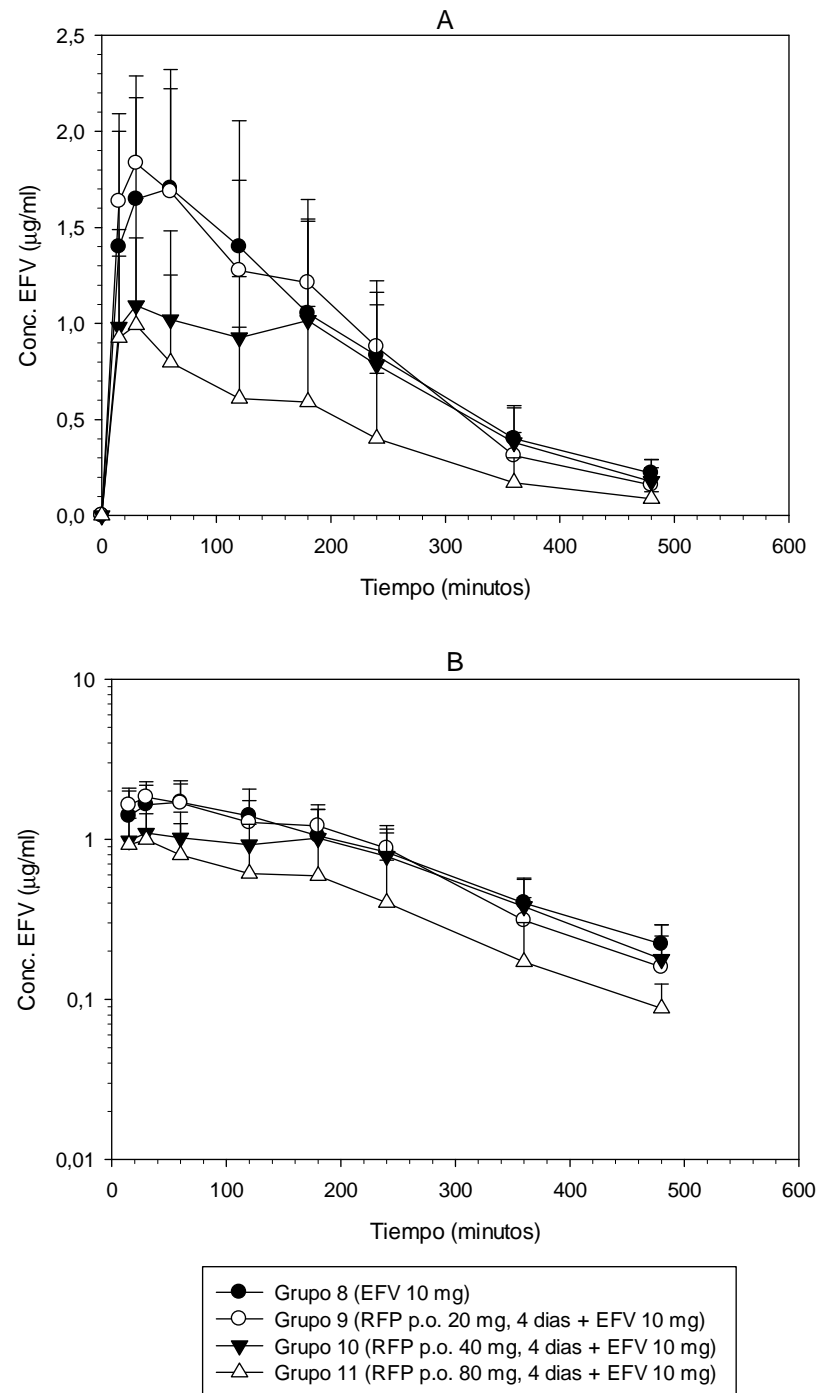


Figura 20. Niveles plasmáticos medios de EFV obtenidos en los animales de los grupos 8, 9, 10 y 11. Se muestra la representación en una gráfica con escalas lineales (A) y en una gráfica semilogarítmica (B).

En la tabla 19 se muestran los valores medios de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los cuatro grupos de animales. La comparación estadística mostró diferencias significativas entre los valores medios de C_{\max} , AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ del grupo 11 y los correspondientes valores del grupo 8 (grupo control).

Tabla 19. Valores medios (\pm desviación estándar) de los parámetros farmacocinéticos de EFV obtenidos en los grupos 8, 9, 10 y 11 y comparación estadística. Los distintos parámetros se expresan en las siguientes unidades: t_{\max} y $t_{1/2}$ en min, C_{\max} en $\mu\text{g/ml}$, AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ en $\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$.

Parámetros	Grupo 8 (EFV 10 mg)	Grupo 9 (RFP p.o. 20 mg + EFV 10 mg)	Grupo 10 (RFP p.o. 40 mg + EFV 10 mg)	Grupo 11 (RFP p.o. 80 mg + EFV 10 mg)	ANOVA
t_{\max}	62,50 \pm 46,80	39,00 \pm 20,12	117,50 \pm 94,11	22,50 \pm 8,22	NS
C_{\max}	2,07 \pm 0,50 ^a	1,88 \pm 0,51 ^{a,b}	1,41 \pm 0,38 ^{a,b}	1,18 \pm 0,18 ^b	0,003
$t_{1/2}$	132,39 \pm 41,33	98,61 \pm 24,41	136,41 \pm 74,74	133,55 \pm 13,63	NS
AUC_{last}	443,31 \pm 138,96 ^a	416,64 \pm 128,65 ^{a,b}	354,62 \pm 71,63 ^{a,b}	221,47 \pm 96,15 ^b	< 0,001
$AUC_{0-\infty}$	489,88 \pm 136,49 ^a	440,74 \pm 138,38 ^{a,b}	402,62 \pm 60,02 ^{a,b}	242,70 \pm 100,98 ^b	< 0,001

NS: diferencias no estadísticamente significativas; ^{a, b}: letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos.

3.1.2. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de RFP

En la tabla 20 y en las figuras 21A y 21B se muestran los niveles plasmáticos medios de RFP obtenidos en los animales administrados por vía oral con RFP durante 4 días (grupos 9 a 11). Los niveles plasmáticos se obtuvieron durante el quinto día, coincidiendo con las muestras sanguíneas utilizadas para la determinación de las concentraciones plasmáticas de EFV.

Tabla 20. Niveles plasmáticos de RFP (media \pm desviación estándar) obtenidos en las ratas administradas por vía oral (p.o.) durante 4 días (n = 6). Valores de concentración en $\mu\text{g/ml}$.

Tiempo (min)	Grupo 9 (RFP p.o. 20 mg + EFV 10 mg)	Grupo 10 (RFP p.o. 40 mg + EFV 10 mg)	Grupo 11 (RFP p.o. 80 mg + EFV 10 mg)
0	13,59 \pm 10,46	35,60 \pm 27,34	121,93 \pm 40,05
15	18,28 \pm 6,43	55,72 \pm 27,81	118,25 \pm 30,00
30	22,26 \pm 6,63	57,52 \pm 25,58	123,46 \pm 35,49
60	17,92 \pm 6,29	61,80 \pm 22,13	117,16 \pm 35,45
120	16,69 \pm 6,46	60,66 \pm 29,45	114,94 \pm 28,94
180	13,15 \pm 4,19	61,54 \pm 32,41	109,86 \pm 31,22
240	15,04 \pm 5,80	56,35 \pm 28,90	104,45 \pm 32,00
360	11,82 \pm 5,49	54,80 \pm 18,74	142,54 \pm 33,39
480	8,54 \pm 2,91	50,76 \pm 15,96	150,67 \pm 34,16

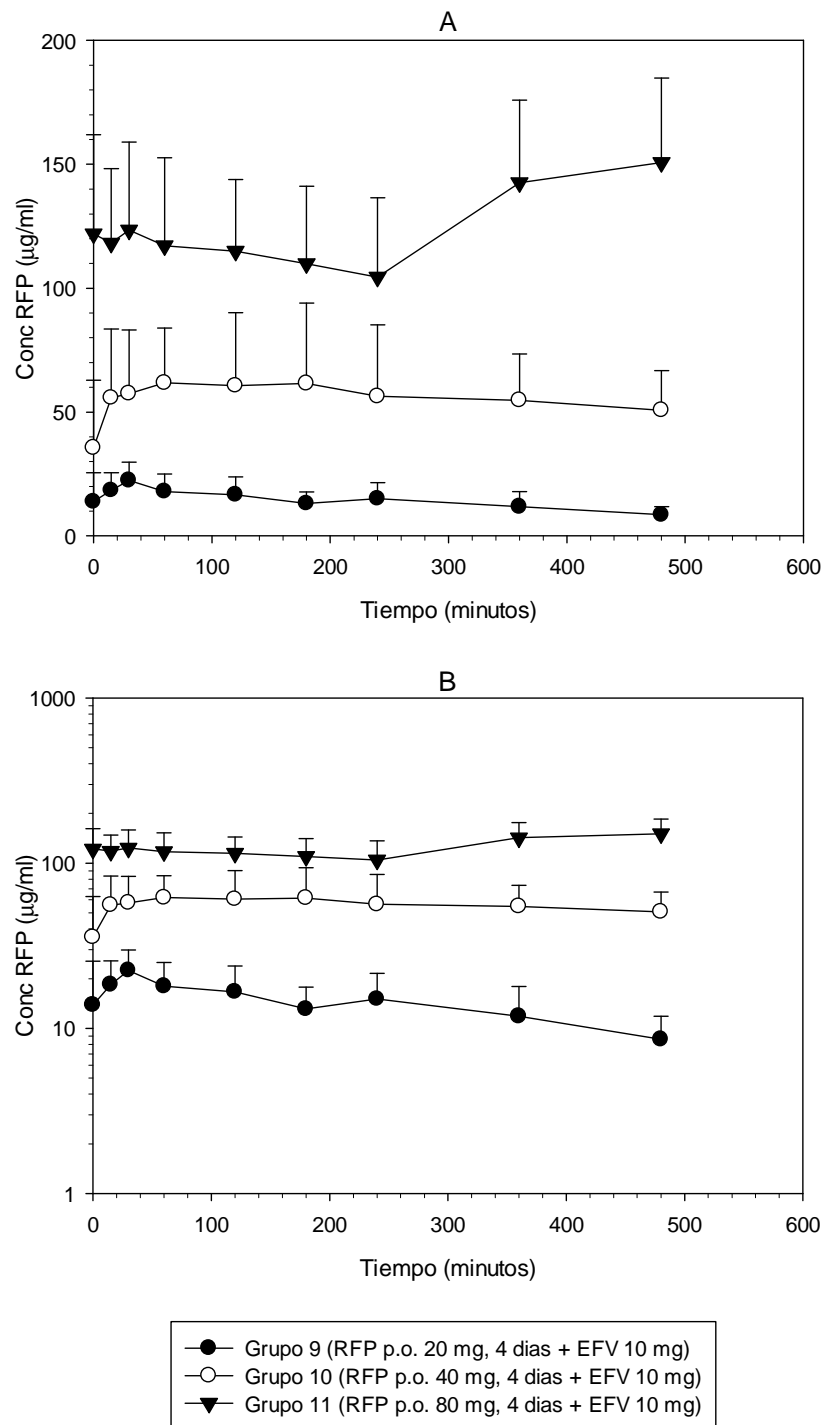


Figura 21. Niveles plasmáticos medios de RFP obtenidos en los animales de los grupos 9, 10 y 11. Se muestra la representación en una gráfica con escalas lineales (A) y en una gráfica semilogarítmica (B).

En la tabla 21 se muestran los valores medios de los parámetros farmacocinéticos de RFP obtenidos en los tres grupos de animales. Debido a la lentitud en la caída de los niveles plasmáticos de RFP, no fue posible efectuar una estimación fiable de la constante terminal, por lo que no se determinó la semivida plasmática ni el $AUC_{0-\infty}$.

Tabla 21. Valores medios (\pm desviación estándar) de los parámetros farmacocinéticos de RFP obtenidos en los grupos 9, 10 y 11. Los distintos parámetros se expresan en las siguientes unidades: t_{max} en min, C_{max} en $\mu\text{g/ml}$ y AUC_{last} en $\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$.

Parametros	Grupo 9 (RFP os 20 mg + EFV 10 mg)	Grupo 10 (RFP os 40 mg + EFV 10 mg)	Grupo 11 (RFP os 80 mg + EFV 10 mg)
t_{max}	22,50 \pm 12,55	190,00 \pm 158,37	325,00 \pm 201,17
C_{max}	22,31 \pm 6,66	70,59 \pm 27,85	159,83 \pm 31,38
AUC_{last}	6.757,16 \pm 2039,76	27.291,81 \pm 10.682,77	59.772,72 \pm 13.286,05

DISCUSIÓN

1. Elección de los fármacos y de las dosis ensayadas

En la presente memoria se han evaluado en la rata posibles interacciones farmacocinéticas del EFV con dos fármacos antidepresivos (SRT y NT) y un antibiótico (RFP), ya que es relativamente frecuente la administración de antidepresivos en pacientes con infección por VIH, así como el uso de antibióticos para tratar o prevenir infecciones en estos pacientes.

En humanos, se ha descrito una interacción farmacocinética entre EFV y SRT que da lugar a una disminución en los niveles plasmáticos de SRT, recomendándose un ajuste de la dosis de SRT en los pacientes que reciben ambos fármacos (39). Aunque los niveles plasmáticos de EFV aumentan ligeramente como consecuencia de esta interacción, no existen recomendaciones sobre modificaciones en la dosis del EFV. En relación a la administración conjunta de EFV y NT, no se ha descrito ninguna interacción de tipo farmacocinético en humanos hasta el momento.

La administración de EFV y RFP en humanos conlleva una disminución en los niveles plasmáticos del EFV debido al efecto inductor enzimático del antibiótico (78). La RFP es un potente inductor del CYP3A en los hepatocitos primarios humanos, sin embargo, no se ha observado este efecto inductor en hepatocitos primarios de ratas ni en ensayos *in vivo* en ratas administradas con dosis de RFP de 50 mg/Kg/día, durante 4 días, por vía

intraperitoneal (79). Otros autores (80) han logrado reproducir en las ratas el efecto inductor enzimático de la RFP utilizando dosis elevadas por vía oral (400 mg/Kg/día, durante 8 días).

Los ensayos llevados a cabo en este trabajo estuvieron destinados, por una parte, a evaluar el efecto inhibidor de SRT y NT sobre el metabolismo del EFV y, por otra, a intentar reproducir en la rata el efecto inductor enzimático de la RFP sobre el metabolismo del EFV.

La dosis habitual de EFV utilizada en humanos es de 600 mg/día (aproximadamente 8,6 mg/Kg/día) y la dosis equivalente en las ratas, considerando 310 g como peso medio de los animales, sería de 2,7 mg. No obstante, en los ensayos llevados a cabo en este trabajo se utilizó una dosis superior (10 mg) con el fin de lograr niveles plasmáticos máximos de EFV semejantes a los obtenidos en humanos (0,50–2,87 µg/ml) (38).

Las dosis de SRT y NT se eligieron utilizando el mismo criterio que en el caso del EFV, es decir, se seleccionaron dosis (5 mg) que proporcionasen concentraciones plasmáticas en la rata semejantes a las obtenidas en humanos (190 ng/ml tras dosis múltiples de 200 mg/día en el caso de la SRT y 50-150 ng/ml tras dosis de 75-150 mg/día en el caso de la NT). Además de la dosis de 5 mg se ensayó una dosis mayor (10 mg) en ambos casos, con el fin de acentuar la posible interacción farmacocinética entre los antidepresivos y el EFV.

Con el fin de intentar reproducir el efecto inductor de la RFP sobre el metabolismo del EFV documentado en humanos, se utilizaron dosis de RFP (20, 40 y 80 mg) correspondientes a, aproximadamente, 65, 130 y 260 mg/Kg. Estas dosis se seleccionaron teniendo en cuenta que una dosis de 50

mg/Kg no produce inducción enzimática en la rata (79), mientras que el efecto inductor sí que se ha observado con dosis de 400 mg/Kg (80).

En estudios previos en ratas (85), se ha observado una fase de absorción prolongada del EFV debido a que el fármaco provoca un retraso del vaciado gástrico, lo que puede causar una alteración en los perfiles de absorción del propio EFV y de otros fármacos coadministrados con EFV. Estas alteraciones en el vaciado gástrico provocadas por el EFV no han sido descritas en humanos. Con el fin de evitar el efecto del enlentecimiento del vaciado gástrico sobre los perfiles de absorción de los fármacos administrados a las ratas, se decidió administrar los fármacos directamente en el duodeno.

2. Interacción entre EFV, SRT y NT

La coadministración de EFV y SRT dio lugar a un incremento de los niveles plasmáticos del EFV relacionado con la dosis de SRT administrada. No obstante, solo se detectaron diferencias estadísticamente significativas en los valores medios de los parámetros C_{max} , AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ del EFV correspondientes a los animales administrados con la dosis mayor de SRT (10 mg), obteniéndose los siguientes incrementos, en comparación al grupo control, 75 % (C_{max}), 78 % (AUC_{last}) y 85 % ($AUC_{0-\infty}$). Sin embargo, no se observaron cambios en los niveles plasmáticos de SRT como consecuencia de su administración con EFV. Los resultados obtenidos sugieren un efecto inhibidor de la SRT sobre el metabolismo del EFV, que fue confirmado posteriormente mediante ensayos *in vitro* con microsomas hepáticos de rata. El efecto inductor del EFV sobre el metabolismo de SRT descrito en

humanos no ha sido estudiado en este trabajo, ya que se requiere una administración repetida del fármaco inductor (EFV) para que se manifieste el efecto inductor enzimático.

La coadministración de EFV y NT produjo un incremento en las concentraciones plasmáticas de EFV relacionado con la dosis de NT administrada. Al igual que en los grupos coadministrados con SRT, solo se detectaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros del EFV cuando se empleó la dosis mayor de NT (10 mg), obteniéndose incrementos del 53 % (C_{max}), 70 % (AUC_{last}) y 79 % ($AUC_{0-\infty}$), en comparación a los correspondientes valores obtenidos en el grupo control. Estos resultados sugieren una inhibición del metabolismo del EFV debida a la coadministración de NT.

Los ensayos *in vitro* realizados con microsomas hepáticos de rata confirmaron que tanto la SRT como la NT inhiben el metabolismo del EFV, ya que se reduce la velocidad de formación del metabolito 8-OH-EFV. La NT presentó un valor de Cl_{50} (3,5 µg/ml) inferior a SRT (35 µg/ml), lo que indica que la NT es un inhibidor más potente del metabolismo del EFV que la SRT. No obstante, y como ya se ha indicado, el efecto inhibidor observado *in vivo* fue similar para ambos antidepresivos.

3. Interacción entre EFV y RFP

La administración de RFP por vía oral (dosis de 40 y 80 mg) durante 4 días, dio lugar a niveles plasmáticos del EFV más bajos que los obtenidos en el grupo control, con diferencias estadísticamente significativa en los

valores medios de C_{\max} , AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ del EFV para la dosis de 80 mg, lo que sugiere un efecto inductor de la RFP sobre el metabolismo del EFV, previamente documentado en humanos pero no descrito hasta el momento en las ratas. En humanos, la RFP da lugar a una disminución en el C_{\max} y $AUC_{0-\infty}$ del EFV del 24 % y 22 %, respectivamente. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran reducciones en el C_{\max} y $AUC_{0-\infty}$ del EFV del 31 % y 18 % (dosis de RFP = 40 mg/día) o del 43 % y 50 % (dosis de RFP = 80 mg/día), por lo que puede concluirse que se ha logrado reproducir en la rata el efecto inductor de la RFP sobre el metabolismo del EFV, utilizando dosis de RFP en el intervalo de 40-80 mg/día durante 4 días.

CONCLUSIONES/ CONCLUSIONS

1. Los procedimientos cromatográficos descritos para la valoración de EFV, 8-OH-EFV, SRT y RFP permiten la adecuada separación de los fármacos ensayados de otros componentes del plasma o de los microsomas hepáticos de rata y su cuantificación.

2. La coadministración de EFV y SRT (5 y 10 mg) dio lugar a niveles plasmáticos de EFV más elevados que en el grupo control. Con la dosis de 10 mg de SRT se obtuvo un incremento estadísticamente significativo en los valores medios de C_{max} , AUC_{last} y $AUC_{0-\infty}$ del EFV, que aumentaron en un 75 %, 78 % y 85 %, respectivamente, en comparación con los correspondientes valores del grupo control. Sin embargo, el EFV no produjo cambios en los niveles plasmáticos de SRT.

3. La coadministración de EFV y NT (5 y 10 mg) produjo un incremento en los valores de concentraciones plasmáticas de EFV respecto a los obtenidos en el grupo control. Se obtuvo un aumento estadísticamente significativo en los valores de C_{max} (53 %), AUC_{last} (70 %) y $AUC_{0-\infty}$ (79 %) del EFV en el grupo administrado con 10 mg de NT, en comparación con los correspondientes valores del grupo control.

4. Los ensayos *in vitro*, realizados con microsomas hepáticos de rata, confirmaron un efecto inhibitorio de SRT y NT sobre el metabolismo del EFV. Utilizando una concentración de EFV de 5 µg/ml, las concentraciones de SRT y NT que dieron lugar a una inhibición del 50 % (CI₅₀) en la velocidad de formación del metabolito 8-OH-EFV fueron 35 µg/ml y 3,5 µg/ml, respectivamente.

5. La administración de RFP por vía oral durante cuatro días, con dosis diarias de 40 y 80 mg, dio lugar a una disminución de los niveles plasmáticos de EFV en comparación con los obtenidos en el grupo control. Con la dosis diaria de 80 mg de RFP se obtuvo una disminución estadísticamente significativo en los valores medios de C_{max}, AUC_{last} y AUC_{0-∞} del EFV (43 %, 50 % y 50 %, respectivamente). Estos resultados sugieren un efecto inductor de la RFP sobre el metabolismo del EFV.

1. The chromatographic methods used for the analysis of EFV, 8-OH-EFV, SRT and RFP allow an adequate separation of these substances from components of plasma and hepatic microsomes of rats, as well as their quantification.

2. The co-administration of EFV and SRT (5 and 10 mg) gave rise to higher EFV plasma levels than those obtained in the control group (only dosed with EFV). A statistically significant increase of the mean C_{max} , AUC_{last} and $AUC_{0-\infty}$ values of EFV was obtained when the 10 mg dose of SRT was employed. The increases of the former EFV parameters were 75 %, 78 % and 85 %, respectively. However, EFV did not statistically modify the SRT plasma levels.

3. The co-administration of EFV and NT (5 and 10 mg) produced an increase of the EFV plasma concentrations, when compared with those obtained in rats dosed with EFV only. A statistically significant increase of the C_{max} (53 %), AUC_{last} (70 %) and $AUC_{0-\infty}$ (79 %) values of EFV was detected in the group of rats co-administered with 10 mg of NT.

4. The *in vitro* experiments, using hepatic microsomes of rats, confirmed an inhibitory effect of SRT and NT on the metabolism of EFV. Using a concentration of EFV of 5 $\mu\text{g/ml}$, the concentrations of SRT and NT that decreased the formation rate of the metabolite 8-OH-EFV by 50 % (IC_{50}) were 35 $\mu\text{g/ml}$ and 3,5 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

5. The oral administration of RFP during four days, using daily doses of 40 and 80 mg, provoked a decrease of the EFV plasma concentrations when administered as a single dose on the fifth day, when compared with

the EFV plasma levels obtained in the control group. The daily dose of 80 mg of RFP gave rise to statistically significant decreases of the C_{max} , AUC_{last} and $AUC_{0-\infty}$ values of EFV (decreases of 43 %, 50 % and 50 %, respectively). These results suggest that RFP induces the EFV metabolism.

BIBLIOGRAFIA

1. Gallo RC. Virus hunting - AIDS, cancer, and the human retrovirus: A story of scientific discovery. New York: Basic Books; 1991.
2. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science. 1983; 220: 868-71.
3. Gallo RC, Montagnier L. Historical essay. Prospects for the future. Science. 2002; 298: 1730-1.
4. Sierra S, Kupfer B, Kaiser R. Basics of the virology of HIV-1 and its replication. J Clin Virol. 2005; 34: 233-44.
5. Piatak M, Jr, Saag MS, Yang LC, Clark SJ, Kappes JC, Luk KC, et al. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. Science. 1993; 259: 1749-54.
6. Embretson J, Zupancic M, Ribas JL, Burke A, Racz P, Tenner-Racz K, et al. Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. Nature. 1993; 362: 359-62.
7. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The role of lymphoid organs in the pathogenesis of HIV infection. Semin Immunol. 1993; 5: 157-63.
8. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, Johnson VA, Emini EA, Deutsch P, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. Nature. 1995; 373: 117-22.
9. Stages of VIH infection [Internet] [acceso 2 de junio de 2014] Disponible en: <http://aidsinfo.nih.gov/education-materials/fact-sheets/19/46/the-stages-of-hiv-infection>

10. McMichael AJ, Borrow P, Tomaras GD, Goonetilleke N, Haynes BF. The immune response during acute HIV-1 infection: Clues for vaccine development. *Nat Rev Immunol*. 2010; 10: 11-23.
11. Hengel RL, Kennedy MS, Steketee RW, Thea DM, Abrams EJ, Lambert G, et al. Neutralizing antibody and perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1. New York City Perinatal HIV Transmission Collaborative Study Group. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1998; 14: 475-81.
12. Oldstone MB. How viruses escape from cytotoxic T lymphocytes: Molecular parameters and players. *Virology*. 1997; 234: 179-85.
13. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature*. 1995; 373: 123-6.
14. Mellors JW, Rinaldo CR, Jr, Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science*. 1996; 272: 1167-70.
15. Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, Margolick JB, Tassoni CJ, Gupta P, et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med*. 1997; 126: 946-54.
16. Hosseinipour M, Cohen MS, Vernazza PL, Kashuba AD. Can antiretroviral therapy be used to prevent sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1? *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 1391-5.
17. Fauci A.S. LHC. The acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). In: *Harrison's principles of internal medicine*, 12th edition. J.D. Wilson et al. ed. New York: McGraw-Hill; 1991. p. 1402-10.
18. Reeves JD, Doms RW. Human immunodeficiency virus type 2. *J Gen Virol*. 2002; 83: 1253-65.
19. Marlink R, Kanki P, Thior I, Travers K, Eisen G, Siby T, et al. Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science*. 1994; 265: 1587-90.
20. Vyas JM, Van der Veen AG, Ploegh HL. The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8: 607-18.

21. Clapham PR, McKnight A. Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate lentiviruses. *J Gen Virol.* 2002; 83: 1809-29.
22. Chinen J, Shearer WT. Molecular virology and immunology of HIV infection. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110: 189-98.
23. 1999 USPHS/IDSA guidelines for the prevention of opportunistic infections in persons infected with human immunodeficiency virus. [Internet] [acceso 2 de junio de 2014]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr4810a1.htm>
24. Panel on antiretroviral guidelines for adults and adolescents. guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. [Internet] [acceso 2 de junio de 2014]. Disponible en: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>
25. Gunthard HF, Aberg JA, Eron JJ, Hoy JF, Telenti A, Benson CA, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the international antiviral society-USA panel. *JAMA.* 2014; 312: 410-25.
26. Palella FJ, Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV outpatient study investigators. *N Engl J Med.* 1998; 338: 853-60.
27. Panos G, Samonis G, Alexiou VG, Kavarnou GA, Charatsis G, Falagas ME. Mortality and morbidity of HIV infected patients receiving HAART: A cohort study. *Curr HIV Res.* 2008; 6: 257-60.
28. De Clercq E. HIV inhibitors targeted at the reverse transcriptase. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1992; 8: 119-34.
29. Kaufmann GR, Cooper DA. Antiretroviral therapy of HIV-1 infection: Established treatment strategies and new therapeutic options. *Curr Opin Microbiol.* 2000; 3: 508-14.
30. Wensing AM, van Maarseveen NM, Nijhuis M. Fifteen years of HIV protease inhibitors: Raising the barrier to resistance. *Antiviral Res.* 2010; 85: 59-74.

-
31. Jamjian MC, McNicholl IR. Enfuvirtide: First fusion inhibitor for treatment of HIV infection. *Am J Health Syst Pharm*. 2004; 61: 1242-7.
32. Vella S, Palmisano L. Antiretroviral therapy: State of the HAART. *Antiviral Res*. 2000; 45: 1-7.
33. Richman D, Shih CK, Lowy I, Rose J, Prodanovich P, Goff S, et al. Human immunodeficiency virus type 1 mutants resistant to nonnucleoside inhibitors of reverse transcriptase arise in tissue culture. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991; 88: 11241-5.
34. Brockmoller J, Kirchheiner J, Meisel C, Roots I. Pharmacogenetic diagnostics of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment. *Pharmacogenomics*. 2000; 1: 125-51.
35. Maurin MB, Rowe SM, Blom K, Pierce ME. Kinetics and mechanism of hydrolysis of efavirenz. *Pharm Res*. 2002; 19: 517-21.
36. Gao JZ, Hussain MA, Motheram R, Gray DA, Benedek IH, Fiske WD, et al. Investigation of human pharmacoscintigraphic behavior of two tablets and a capsule formulation of a high dose, poorly water soluble/highly permeable drug (efavirenz). *J Pharm Sci*. 2007; 96: 2970-7.
37. Kasim NA, Whitehouse M, Ramachandran C, Bermejo M, Lennernas H, Hussain AS, et al. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Mol Pharm*. 2004; 1: 85-96.
38. Rakhmanina NY, van den Anker JN. Efavirenz in the therapy of HIV infection. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2010; 6: 95-103.
39. Sustiva® prescribing information. [Internet] [acceso 2 de junio de 2014]. Disponible en: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/020972s033,021360s021lbl.pdf
40. Ward BA, Gorski JC, Jones DR, Hall SD, Flockhart DA, Desta Z. The cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) is the main catalyst of efavirenz primary and secondary metabolism: Implication for HIV/AIDS therapy and utility of efavirenz as a substrate marker of CYP2B6 catalytic activity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 306: 287-300.

-
41. Ogburn ET, Jones DR, Masters AR, Xu C, Guo Y, Desta Z. Efavirenz primary and secondary metabolism in vitro and in vivo: Identification of novel metabolic pathways and cytochrome P450 2A6 as the principal catalyst of efavirenz 7-hydroxylation. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38: 1218-29.
42. Mutlib AE, Chen H, Nemeth GA, Markwalder JA, Seitz SP, Gan LS, et al. Identification and characterization of efavirenz metabolites by liquid chromatography/mass spectrometry and high field NMR: Species differences in the metabolism of efavirenz. *Drug Metab Dispos.* 1999; 27: 1319-33.
43. Baede P, Piscitelli S, Graham N, van't Klooster G. Drug interactions with TMC125, a potent next generation non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor. 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy San Diego, CA, USA. 27–30 September 2002; Abstract A-1827.
44. Hsu A, Isaacson J, Brun S, Bernstein B, Lam W, Bertz R, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of lopinavir-ritonavir in combination with efavirenz and two nucleoside reverse transcriptase inhibitors in extensively pretreated human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 350-9.
45. Poirier JM, Guiard-Schmid JB, Meynard JL, Bonnard P, Zouai O, Lukiana T, et al. Critical drug interaction between ritonavir-boosted atazanavir regimen and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS.* 2006; 20: 1087-9.
46. Sekar VJ, De Pauw M, Marien K, Peeters M, Lefebvre E, Hoetelmans RM. Pharmacokinetic interaction between TMC114/r and efavirenz in healthy volunteers. *Antivir Ther.* 2007; 12: 509-14.
47. Droste JA, Kearney BP, Hekster YA, Burger DM. Assessment of drug-drug interactions between tenofovir disoproxil fumarate and the nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors nevirapine and efavirenz in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006; 41: 37-43.
48. Gutierrez F, Navarro A, Padilla S, Anton R, Masia M, Borrás J, et al. Prediction of neuropsychiatric adverse events associated with long-term

efavirenz therapy, using plasma drug level monitoring. Clin Infect Dis. 2005; 41: 1648-53.

49. Maggiolo F. Efavirenz: A decade of clinical experience in the treatment of HIV. J Antimicrob Chemother. 2009; 64: 910-28.

50. Jones M, Nunez M. Liver toxicity of antiretroviral drugs. Semin Liver Dis. 2012; 32: 167-76.

51. Panel on antiretroviral therapy and medical management of HIV-infected children. Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection [Internet] [acceso 2 de junio de 2014]. Disponible en: <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/pediatricguidelines.pdf>

52. Top 25 psychiatric medication prescriptions for 2011. Psych central. [Internet] [acceso 2 de junio de 2014]. Disponible en: <http://psychcentral.com/lib/top-25-psychiatric-medication-prescriptions-for-2011/00012586>

53. Sousa MB, Isolan LR, Oliveira RR, Manfro GG, Cordioli AV. A randomized clinical trial of cognitive-behavioral group therapy and sertraline in the treatment of obsessive-compulsive disorder. J Clin Psychiatry. 2006; 67: 1133-9.

54. Watts BV, Schnurr PP, Mayo L, Young-Xu Y, Weeks WB, Friedman MJ. Meta-analysis of the efficacy of treatments for posttraumatic stress disorder. J Clin Psychiatry. 2013; 74: 541-50.

55. Hirschfeld RM. Sertraline in the treatment of anxiety disorders. Depress Anxiety. 2000; 11: 139-57.

56. Murdoch D, McTavish D. Sertraline. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in depression and obsessive-compulsive disorder. Drugs. 1992; 44: 604-24.

57. Hansen RA, Gaynes BN, Gartlehner G, Moore CG, Tiwari R, Lohr KN. Efficacy and tolerability of second-generation antidepressants in social anxiety disorder. Int Clin Psychopharmacol. 2008; 23: 170-9.

-
58. Halbreich U, Kahn LS. Treatment of premenstrual dysphoric disorder with luteal phase dosing of sertraline. *Expert Opin Pharmacother*. 2003; 4: 2065–78.
59. Vaidya V. Sertraline in the treatment of hiccups. *Psychosomatics*. 2000; 41: 353-5.
60. Zoloft®, prescribing information [Internet] [acceso 2 de junio de 2014]. Disponible en: http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/04/briefing/4006b1_06_zoloft-label.pdf
61. van Harten J. Clinical pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Clin Pharmacokinet*. 1993; 24: 203-20.
62. Zoloft®, product monograph [Internet] [acceso 15 de julio de 2014]. Disponible en: http://www.pfizer.ca/en/our_products/products/monograph/137
63. Heym J, Koe BK. Pharmacology of sertraline: A review. *J Clin Psychiatry*. 1988; 49: 40-5.
64. Kobayashi K, Ishizuka T, Shimada N, Yoshimura Y, Kamijima K, Chiba K. Sertraline N-demethylation is catalyzed by multiple isoforms of human cytochrome P-450 in vitro. *Drug Metab Dispos*. 1999; 27: 763-6.
65. Obach RS, Walsky RL, Venkatakrishnan K. Mechanism-based inactivation of human cytochrome p450 enzymes and the prediction of drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos*. 2007; 35: 246-55.
66. Ozdemir V, Naranjo CA, Herrmann N, Shulman RW, Sellers EM, Reed K, et al. The extent and determinants of changes in CYP2D6 and CYP1A2 activities with therapeutic doses of sertraline. *J Clin Psychopharmacol*. 1998; 18: 55-61.
67. Alfaro CL, Lam YW, Simpson J, Ereshefsky L. CYP2D6 status of extensive metabolizers after multiple-dose fluoxetine, fluvoxamine, paroxetine, or sertraline. *J Clin Psychopharmacol*. 1999; 19: 155-63.
68. Alfaro CL, Lam YW, Simpson J, Ereshefsky L. CYP2D6 inhibition by fluoxetine, paroxetine, sertraline, and venlafaxine in a crossover study:

Intraindividual variability and plasma concentration correlations. *J Clin Pharmacol*. 2000; 40: 58-66.

69. Hamilton SP, Nunes EV, Janal M, Weber L. The effect of sertraline on methadone plasma levels in methadone-maintenance patients. *Am J Addict*. 2000; 9: 63-9.

70. Talakad JC, Kumar S, Halpert JR. Decreased susceptibility of the cytochrome P450 2B6 variant K262R to inhibition by several clinically important drugs. *Drug Metab Dispos*. 2009; 37: 644-50.

71. Sweetman SC. Editor Martindale. The Complete Drug Reference. 33rd edition. London: Chicago Pharmaceutical Press; 2002.

72. Dworkin RH, O'Connor AB, Audette J, Baron R, Gourlay GK, Haanpaa ML, et al. Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: An overview and literature update. *Mayo Clin Proc*. 2010; 85: S3-14.

73. Zhou SF, Zhou ZW, Yang LP, Cai JP. Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human cytochrome P450 2C9 and implications in drug development. *Curr Med Chem*. 2009; 16: 3480-675.

74. Trevor AJ, Katzung BG, Masters SB. Katzung & Trevor's pharmacology: examination & board review 7th edition. New York: Lange Medical Books/McGraw Hill; 2005.

75. Calvori C, Frontali L, Leoni L, Tecce G. Effect of rifamycin on protein synthesis. *Nature*. 1965; 207: 417-8.

76. The Merck Index. 11th edition. Merck & Co; 1989.

77. Dixit V, Hariparsad N, Li F, Desai P, Thummel KE, Unadkat JD. Cytochrome P450 enzymes and transporters induced by anti-human immunodeficiency virus protease inhibitors in human hepatocytes: Implications for predicting clinical drug interactions. *Drug Metab Dispos*. 2007; 35: 1853-9.

78. Lopez-Cortes LF, Ruiz-Valderas R, Viciano P, Alarcon-Gonzalez A, Gomez-Mateos J, Leon-Jimenez E, et al. Pharmacokinetic interactions

between efavirenz and rifampicin in HIV-infected patients with tuberculosis. Clin Pharmacokinet. 2002; 41: 681-90.

79. Wrighton SA, Schuetz EG, Watkins PB, Maurel P, Barwick J, Bailey BS, et al. Demonstration in multiple species of inducible hepatic cytochromes P-450 and their mRNAs related to the glucocorticoid-inducible cytochrome P-450 of the rat. Mol Pharmacol. 1985; 28: 312-21.

80. Piriou A, Jacqueson A, Warnet JM, Claude JR. Enzyme induction with high doses of rifampicin in wistar rats. Toxicol Lett. 1983; 17: 301-6.

81. Benedek I, Joshi A, Fiske WD, et al. Pharmacokinetic interaction between efavirenz and rifampicin in healthy volunteers. 12th World AIDS Conference, Geneva, Switzerland; 1998.

82. Torres-Molina F, Aristorena JC, Garcia-Carbonell C, Granero L, Chesa-Jimenez J, Pla-Delfina J, et al. Influence of permanent cannulation of the jugular vein on pharmacokinetics of amoxycillin and antipyrine in the rat. Pharm Res. 1992; 9: 1587-91.

83. Lowry Oh, Rosebrough Nj, Farr Al, Randall Rj. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951; 193: 265-75.

84. Melis V, Usach I, Peris JE. Determination of sertraline in rat plasma by HPLC and fluorescence detection and its application to in vivo pharmacokinetic studies. J Sep Sci. 2012; 35: 3302-7.

85. Balani SK, Kauffman LR, deLuna FA, Lin JH. Nonlinear pharmacokinetics of efavirenz (DMP-266), a potent HIV-1 reverse transcriptase inhibitor, in rats and monkeys. Drug Metab Dispos. 1999; 27: 41-5.

ANEXOS

A.1. Interacción entre EFV y SRT

A.1.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV

Tabla A1. Niveles plasmáticos de **EFV** ($\mu\text{g/ml}$) obtenidos en los animales del grupo 1.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
15	1,17	1,31	0,94	0,56	0,79	0,41	0,86 \pm 0,35
30	1,18	1,88	2,81	0,82	1,62	1,15	1,58 \pm 0,71
60	1,45	1,87	1,89	1,21	1,75	1,39	1,59 \pm 0,28
120	1,21	1,52	1,85	1,30	1,76	1,65	1,55 \pm 0,25
180	1,16	1,07	1,62	0,89	1,42	1,38	1,26 \pm 0,27
240	---	0,54	---	0,83	1,09	1,21	0,92 \pm 0,30
360	0,59	0,32	0,87	0,61	0,60	0,65	0,61 \pm 0,18
465	0,35	0,19	0,45	0,42	0,37	0,36	0,36 \pm 0,09

Tabla A2. Valores de los parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos en las ratas del **grupo 1**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	60,00	30,00	30,00	120,00	120,00	120,00	80,00 \pm 45,17
C_{max}	1,45	1,88	2,81	1,30	1,76	1,65	1,81 \pm 0,53
t_½	112,05	156,16	111,09	214,99	144,39	128,77	144,58 \pm 38,79
AUC_{last}	452,43	399,75	662,70	362,83	456,90	465,38	466,66 \pm 103,91
AUC_{0-∞}	506,55	442,10	733,43	496,22	527,65	532,85	539,80 \pm 100,24
t _{max} : min, C _{max} : µg/ml, t _½ : min, AUC _{last} : µg·min/ml, AUC _{0-∞} : µg·min/ml							

Tabla A3. Niveles plasmáticos de **EFV** (µg/ml) obtenidos en los animales del **grupo 3**.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
15	0,53	0,87	1,21	1,79	2,38	0,48	1,21 \pm 0,75
30	1,14	1,27	1,70	1,61	3,01	1,81	1,76 \pm 0,67
60	1,69	1,62	1,86	1,84	1,53	3,07	1,94 \pm 0,57
120	1,52	1,66	2,45	1,87	2,69	2,19	2,07 \pm 0,46
180	1,39	1,50	1,84	1,36	2,22	1,70	1,67 \pm 0,33
240	0,93	0,87	---	1,08	1,72	1,49	1,22 \pm 0,37
360	0,70	0,40	0,72	0,42	0,75	1,14	0,69 \pm 0,27
465	---	0,37	0,43	0,20	0,39	0,91	0,46 \pm 0,27

Tabla A4. Valores de los parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos en las ratas del **grupo 3**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	60,00	120,00	120,00	120,00	30,00	60,00	85,00 \pm 39,87
C_{max}	1,69	1,66	2,45	1,87	3,01	3,07	2,29 \pm 0,65
t_½	221,45	141,04	136,45	110,23	107,43	276,09	165,45 \pm 68,16
AUC_{last}	413,93	453,38	636,28	518,95	753,75	678,60	575,81 \pm 139,45
AUC_{0-∞}	633,46	516,46	720,41	551,42	812,45	1051,47	714,94 \pm 197,45

t_{max}: min, C_{max}: µg/ml, t_½: min, AUC_{last}: µg·min/ml, AUC_{0-∞}: µg·min/ml

Tabla A5. Niveles plasmáticos de **EFV** (µg/ml) obtenidos en los animales del **grupo 4**.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
15	1,53	2,23	1,30	3,01	0,50	0,75	1,55 \pm 0,94
30	2,21	2,29	2,75	1,95	1,10	2,16	2,08 \pm 0,55
60	2,94	3,15	3,46	2,78	2,40	2,74	2,91 \pm 0,36
120	2,43	3,51	3,80	3,55	2,11	1,96	2,89 \pm 0,82
180	2,38	2,66	3,14	2,79	1,71	1,76	2,41 \pm 0,57
240	2,15	1,77	2,58	2,03	1,29	1,53	1,89 \pm 0,46
360	1,34	1,10	1,45	1,37	0,81	1,14	1,20 \pm 0,24
465	0,77	0,67	0,90	0,73	0,51	0,69	0,71 \pm 0,13

Tabla A6. Valores de los parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos en las ratas del **grupo 4**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	60,00	120,00	120,00	120,00	60,00	60,00	90,00 \pm 32,86
C_{max}	2,94	3,51	3,80	3,55	2,40	2,74	3,16 \pm 0,55
t_½	125,55	157,13	144,69	144,09	167,96	223,54	160,49 \pm 4,01
AUC_{last}	835,13	920,78	1095,03	916,80	592,20	699,15	843,18 \pm 178,14
AUC_{0-∞}	985,62	1074,37	1281,22	1058,80	717,24	938,02	1009,21 \pm 185,24

t_{max}: min, C_{max}: µg/ml, t_½: min, AUC_{last}: µg·min/ml, AUC_{0-∞}: µg·min/ml

A.1.2. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de SRT

Tabla A7. Niveles plasmáticos de **SRT** (ng/ml) obtenidos en los animales del **grupo 2** (control SRT).

Tiempo (min)	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
30	215,28	215,55	205,26	90,74	209,48	102,89	173,20 \pm 59,42
45	324,01	291,40	262,23	112,73	232,18	144,22	227,80 \pm 83,34
75	261,99	291,81	263,39	176,45	372,05	181,72	257,90 \pm 73,03
135	301,16	236,02	---	45,79	319,58	195,70	219,65 \pm 109,20
195	234,17	238,23	173,71	24,00	310,69	201,86	197,11 \pm 96,44
255	231,11	191,26	172,96	67,59	274,53	227,81	194,21 \pm 71,32
375	141,55	178,25	229,16	16,33	142,75	281,78	164,97 \pm 90,64
480	128,87	143,71	147,63	36,50	142,64	290,35	148,28 \pm 81,37

Tabla A8. Valores de los parámetros farmacocinéticos de **SRT** obtenidos en las ratas del **grupo 2**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	45,00	75,00	75,00	75,00	75,00	480,00	137,50 \pm 168,22
C_{max}	324,01	291,81	263,39	176,45	372,05	290,35	286,34 \pm 65,44
t_½	273,62	430,05	766,74	210,91	259,69	---	388,20 \pm 227,00
AUC_{last}	99,53	97,80	95,00	26,54	112,75	105,04	89,45 \pm 31,45
AUC_{0-∞}	147,37	187,13	272,53	32,96	162,38	---	160,47 \pm 86,17

t_{max}: min, C_{max}: ng/ml, t_½: min, AUC_{last}: µg·min/ml, AUC_{0-∞}: µg·min/ml

Tabla A9. Niveles plasmáticos de **SRT** (ng/ml) obtenidos en los animales del **grupo 3**.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
30	231,48	252,96	226,95	133,38	191,73	220,33	209,47 \pm 42,20
45	236,12	249,80	234,61	176,06	169,16	210,79	212,75 \pm 33,60
75	242,49	182,27	272,37	226,56	230,52	309,84	244,01 \pm 43,45
135	199,74	164,97	270,10	342,46	266,84	281,82	254,32 \pm 63,08
195	188,51	---	193,34	254,37	252,53	253,14	228,38 \pm 34,24
255	179,39	142,56	158,97	276,99	253,46	249,73	210,18 \pm 56,65
375	167,59	122,92	142,04	274,82	260,80	253,64	203,63 \pm 67,00
480	---	47,67	128,56	294,28	---	266,76	184,32 \pm 116,43

Tabla A10. Valores de los parámetros farmacocinéticos de **SRT** obtenidos en las ratas del **grupo 3**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	75,00	30,00	75,00	135,00	135,00	75,00	87,50 \pm 40,71
C_{max}	242,49	252,96	272,37	342,46	266,84	309,84	281,16 \pm 37,82
t_½	619,40	229,96	569,86	---	---	---	473,07 \pm 212,00
AUC_{last}	70,61	67,80	86,71	124,26	88,11	120,76	93,04 \pm 24,28
AUC_{0-∞}	220,38	88,93	192,41	---	---	---	167,24 \pm 69,25

t_{max}: min, C_{max}: ng/ml, t_½: min, AUC_{last}: µg·min/ml, AUC_{0-∞}: µg·min/ml

Tabla A11. Niveles plasmáticos de **SRT** (ng/ml) obtenidos en los animales del **grupo 4**.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
30	636,27	533,04	545,97	226,57	469,36	326,15	456,23 \pm 152,45
45	437,17	492,27	787,49	262,80	650,57	408,07	506,39 \pm 186,44
75	411,97	382,28	937,93	268,78	605,71	609,11	535,96 \pm 237,56
135	345,66	372,00	685,35	368,98	589,72	491,21	475,49 \pm 138,74
195	367,19	315,96	650,14	328,06	526,01	495,32	447,12 \pm 132,31
255	369,26	308,40	428,04	379,18	403,44	419,38	384,62 \pm 43,64
375	262,69	305,43	495,47	229,83	355,54	312,89	326,97 \pm 93,21
480	250,66	224,48	---	209,44	328,35	353,31	273,25 \pm 64,05

Tabla A12. Valores de los parámetros farmacocinéticos de **SRT** obtenidos en las ratas del **grupo 4**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	30,00	30,00	75,00	255,00	45,00	75,00	85,00 \pm 85,73
C_{max}	636,27	533,04	937,93	379,18	650,57	609,11	624,35 \pm 183,22
t_½	550,73	592,52	313,30	259,18	754,58	472,48	490,46 \pm 183,85
AUC_{last}	161,41	155,45	220,59	135,91	212,95	194,61	180,15 \pm 34,17
AUC_{0-∞}	358,44	360,85	412,56	209,26	568,30	407,49	386,15 \pm 115,78
t _{max} : min, C _{max} : ng/ml, t _½ : min, AUC _{last} : µg·min/ml, AUC _{0-∞} : µg·min/ml							

A.2. Interacción entre EFV y NT

A.2.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV

Tabla A13. Niveles plasmáticos de **EFV** ($\mu\text{g/ml}$) obtenidos en los animales del **grupo 5**.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
15	0,79	0,74	0,77	1,61	1,02	0,85	0,96 \pm 0,33
30	1,62	1,74	0,93	1,27	1,48	2,19	1,54 \pm 0,43
60	1,75	2,22	2,27	1,09	1,01	3,00	1,89 \pm 0,76
120	1,76	1,81	1,07	1,04	0,88	1,52	1,35 \pm 0,40
180	1,42	1,34	1,36	1,19	0,95	0,96	1,20 \pm 0,21
240	1,09	1,20	---	1,16	---	0,81	1,06 \pm 0,18
360	0,60	0,41	0,59	0,61	0,97	0,67	0,64 \pm 0,18
465	0,37	0,30	0,42	0,40	0,82	0,36	0,44 \pm 0,19

Tabla A14. Valores de los parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos en las ratas del **grupo 5**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	120,00	60,00	60,00	15,00	240,00	60,00	92,50 \pm 79,61
C_{max}	1,76	2,22	2,27	1,61	1,66	3,00	2,09 \pm 0,53
t_½	144,39	130,95	129,26	146,02	218,91	189,14	159,78 \pm 36,19
AUC_{last}	456,90	499,58	484,73	426,68	498,08	504,38	478,39 \pm 30,62
AUC_{0-∞}	527,65	554,11	557,20	508,73	742,65	609,42	583,29 \pm 85,17
t _{max} : min, C _{max} : µg/ml, t _½ : min, AUC _{last} : µg·min/ml, AUC _{0-∞} : µg·min/ml							

Tabla A15. Niveles plasmáticos de **EFV** (µg/ml) obtenidos en los animales del **grupo 6**.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
15	0,48	0,84	0,29	0,28	0,14	0,39	0,40 \pm 0,24
30	1,91	2,07	1,70	0,79	0,54	1,34	1,39 \pm 0,62
60	2,66	3,11	1,71	1,98	1,72	1,70	2,15 \pm 0,60
120	2,27	3,07	1,59	2,63	1,29	1,98	2,14 \pm 0,66
180	1,78	2,91	1,16	2,54	0,93	1,40	1,79 \pm 0,79
240	1,68	2,70	0,89	2,08	0,97	1,10	1,57 \pm 0,72
360	0,82	1,73	0,50	1,84	0,88	0,82	1,10 \pm 0,55
465	0,58	1,09	0,39	0,59	0,50	0,33	0,58 \pm 0,27

Tabla A16. Valores de los parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos en las ratas del **grupo 6**.

	RATA						Media ± DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	60,00	60,00	60,00	120,00	60,00	120,00	80,00 ± 30,98
C_{max}	2,66	3,11	1,71	2,63	1,72	1,98	2,30 ± 0,58
t_½	177,71	172,26	174,76	175,12	270,72	145,70	186,04 ± 43,14
AUC_{last}	675,38	1.044,08	428,55	833,55	423,45	511,80	652,80 ± 248,61
AUC_{0-∞}	826,43	1.318,70	521,04	1036,87	637,01	592,94	829,17 ± 306,65
t _{max} : min, C _{max} : µg/ml, t _½ : min, AUC _{last} : µg·min/ml, AUC _{0-∞} : µg·min/ml							

Tabla A17. Niveles plasmáticos de **EFV** (µg/ml) obtenidos en los animales del **grupo 7**.

Tiempo (min)	RATA						Media ± DE
	1	2	3	4	5	6	
15	0,87	1,17	0,35	0,12	0,10	0,24	0,48 ± 0,44
30	1,46	2,41	0,49	0,68	0,36	1,15	1,09 ± 0,77
60	3,51	2,70	1,14	3,27	1,27	2,81	2,45 ± 1,01
120	4,46	2,42	2,48	4,17	2,31	3,06	3,15 ± 0,94
180	3,52	2,10	1,93	2,84	1,52	2,65	2,43 ± 0,72
240	2,31	2,06	1,71	2,16	1,23	2,36	1,97 ± 0,43
360	1,44	1,06	1,16	1,21	0,95	1,34	1,19 ± 0,18
465	1,09	0,66	0,73	0,98	0,64	1,04	0,86 ± 0,20

Tabla A18. Valores de los parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos en las ratas del **grupo 7**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	120,00	60,00	120,00	120,00	120,00	120,00	110,00 \pm 24,49
C_{max}	4,46	2,70	2,48	4,17	2,31	3,06	3,20 \pm 0,91
t_½	206,77	136,71	202,67	163,82	237,83	209,16	192,83 \pm 36,26
AUC_{last}	1.101,30	797,55	642,53	952,73	533,48	903,08	821,78 \pm 208,67
AUC_{0-∞}	1.418,24	925,10	865,85	1.160,27	759,81	1.211,06	1056,72 \pm 247,85
t _{max} : min, C _{max} : µg/ml, t _½ : min, AUC _{last} : µg·min/ml, AUC _{0-∞} : µg·min/ml							

A.3. Interacción entre EFV y RFP

A.3.1. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de EFV

Tabla A19. Niveles plasmáticos de **EFV** ($\mu\text{g/ml}$) obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 8**.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm D.E.
	1	2	3	4	5	6	
15	1,54	1,12	0,68	2,44	1,77	1,42	1,50 \pm 0,60
30	2,05	2,17	0,97	1,85	1,60	2,01	1,78 \pm 0,44
60	2,01	2,00	1,12	1,30	1,89	2,46	1,80 \pm 0,50
120	1,15	1,18	0,81	1,20	2,14	2,50	1,50 \pm 0,66
180	0,67	0,91	0,59	1,12	1,72	1,68	1,12 \pm 0,49
240	0,44	0,80	0,43	0,95	1,32	1,34	0,88 \pm 0,40
360	0,26	0,39	0,25	0,65	0,38	0,59	0,42 \pm 0,17
480	0,20	0,28	0,18	0,34	0,13	0,25	0,23 \pm 0,07

Tabla A20. Parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos en los animales del **grupo 8**.

	RATA						Media ± DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	30,00	30,00	60,00	15,00	120,00	120,00	62,50 ± 46,88
C_{max}	2,05	2,17	1,12	2,44	2,14	2,50	2,07 ± 0,50
t_½	123,97	166,59	156,72	176,24	71,77	99,08	132,39 ± 41,33
AUC_{last}	351,67	416,62	245,92	459,82	551,40	634,42	443,31 ± 138,96
AUC_{0-∞}	387,44	483,92	286,62	546,27	564,86	670,16	489,88 ± 136,49
t _{max} : min, C _{max} : µg/ml, t _½ : min, AUC _{last} : µg·min/ml, AUC _{0-∞} : µg·min/ml							

Tabla A21. Niveles plasmáticos de **EFV** (µg/ml) obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 9**.

Tiempo (min)	RATA						Media ± D.E.
	1	2	3	4	5	6	
15	2,23	1,10	1,42	1,45	1,98	0,82	1,64 ± 0,46
30	2,29	1,22	2,18	1,51	1,98	0,87	1,83 ± 0,46
60	2,38	0,96	2,32	1,29	1,48	1,14	1,69 ± 0,64
120	1,50	0,54	1,81	1,24	1,29	0,82	1,28 ± 0,47
180	1,30	0,53	1,45	1,10	1,67	0,66	1,21 ± 0,43
240	1,03	0,37	1,02	1,02	0,94	0,54	0,88 ± 0,28
360	0,29	0,12	0,44	0,36	0,35	0,28	0,31 ± 0,12
480	0,07	0,07	0,27	0,18	0,20	0,17	0,16 ± 0,09

Tabla A22. Parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 9**.

	RATA						Media ± DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	60,00	30,00	60,00	30,00	15,00	60,00	39,00 ± 20,12
C_{max}	2,38	1,22	2,32	1,51	1,98	1,14	1,88 ± 0,51
t_½	61,87	108,75	128,99	95,90	97,53	153,46	98,61 ± 24,41
AUC_{last}	491,77	203,25	531,15	399,97	457,05	264,37	416,64 ± 128,65
AUC_{0-∞}	498,02	214,23	581,39	424,88	485,19	302,01	440,74 ± 138,38
t _{max} : min, C _{max} : µg/ml, t _½ : min, AUC _{last} : µg·min/ml, AUC _{0-∞} : µg·min/ml							

Tabla A23. Niveles plasmáticos de **EFV** (µg/ml) obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 10**.

Tiempo (min)	RATA						Media ± D.E.
	1	2	3	4	5	6	
15	1,49	0,69	---	1,57	0,21	0,94	0,98 ± 0,57
30	1,47	0,93	---	1,87	0,27	1,20	1,15 ± 0,60
60	1,05	1,31	1,21	1,66	0,32	1,06	1,10 ± 0,44
120	0,98	1,34	0,95	1,23	0,63	0,93	1,01 ± 0,25
180	0,70	1,54	0,86	1,26	0,68	1,61	1,11 ± 0,42
240	0,51	0,91	0,81	1,07	0,77	1,16	0,87 ± 0,23
360	0,19	0,33	0,66	0,36	0,57	0,43	0,42 ± 0,17
480	0,09	0,17	0,17	0,17	0,42	0,17	0,20 ± 0,11

Tabla A24. Parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 10**.

	RATA						Media ± DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	15,00	180,00	60,00	30,00	240,00	180,00	117,50 ± 94,11
C_{max}	1,49	1,54	1,21	1,87	0,77	1,61	1,41 ± 0,38
t_½	101,73	93,54	171,66	90,43	274,45	86,63	136,41 ± 74,74
AUC_{last}	277,57	394,72	343,50	439,42	265,12	407,40	354,62 ± 71,63
AUC_{0-∞}	290,78	417,67	385,60	461,60	431,42	428,65	402,62 ± 60,02

t_{max}: min, C_{max}: µg/ml, t_½: min, AUC_{last}: µg·min/ml, AUC_{0-∞}: µg·min/ml

Tabla A25. Niveles plasmáticos de **EFV** (µg/ml) obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 11**.

Tiempo (min)	RATA						Media ± D.E.
	1	2	3	4	5	6	
15	0,98	0,97	1,18	0,96	1,23	1,13	1,08 ± 0,12
30	0,82	1,43	1,33	1,00	1,04	1,02	1,11 ± 0,23
60	0,52	1,24	1,31	0,61	0,64	0,90	0,87 ± 0,34
120	0,42	0,67	1,22	0,44	0,61	0,64	0,67 ± 0,29
180	0,32	0,36	1,24	0,24	0,49	0,62	0,54 ± 0,37
240	0,27	0,24	0,94	0,15	0,38	0,66	0,44 ± 0,30
360	0,12	0,12	0,42	0,14	0,13	0,18	0,19 ± 0,12
480	0,07	0,08	0,20	0,11	0,11	0,11	0,11 ± 0,05

Tabla A26. Parámetros farmacocinéticos de **EFV** obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 11**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	15,00	30,00	30,00	30,00	15,00	15,00	22,50 \pm 8,22
C_{max}	0,98	1,43	1,33	1,00	1,23	1,13	1,18 \pm 0,18
t_½	135,03	137,75	107,49	146,70	133,16	141,15	133,55 \pm 13,63
AUC_{last}	143,85	205,12	401,17	142,05	193,05	243,60	221,47 \pm 96,15
AUC_{0-∞}	157,49	221,02	432,19	165,33	214,18	266,00	242,70 \pm 100,98
t _{max} : min, C _{max} : µg/ml, t _½ : min, AUC _{last} : µg·min/ml, AUC _{0-∞} : µg·min/ml							

A.3.2. Niveles plasmáticos y parámetros farmacocinéticos de RFP

Tabla A27. Niveles plasmáticos de RFP ($\mu\text{g/ml}$) obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 9**.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm D.E.
	1	2	3	4	5	6	
0	1,55	0,68	21,39	22,10	23,58	12,25	13,59 \pm 10,46
15	9,08	13,99	19,65	27,70	21,74	17,51	18,28 \pm 6,43
30	9,63	27,48	23,95	27,58	23,44	21,50	22,26 \pm 6,63
60	9,32	12,15	23,02	25,71	19,78	17,51	17,92 \pm 6,29
120	7,07	11,98	20,33	25,48	18,47	16,80	16,69 \pm 6,46
180	7,31	11,71	13,33	20,32	12,81	13,40	13,15 \pm 4,19
240	7,20	22,40	12,73	21,11	11,86	14,91	15,04 \pm 5,80
360	6,37	21,24	9,82	14,53	7,24	11,72	11,82 \pm 5,49
480	5,46	12,46	6,11	11,65	7,20	8,35	8,54 \pm 2,91

Tabla A28. Parámetros farmacocinéticos de **RFP** obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 9**.

	RATA						Media ± DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	30,00	30,00	30,00	15,00	0,00	30,00	22,50 ± 12,55
C_{max}	9,63	27,48	23,95	27,70	23,58	21,50	22,31 ± 6,65
AUC_{last}	3.386,70	8.113,80	6.740,25	9.449,25	6.165,45	6.687,53	6.757,16 ± 2.039,76

t_{max}: min, C_{max}: µg/ml, AUC_{last}: µg·min/ml

Tabla A29. Niveles plasmáticos de **RFP** (µg/ml) obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 10**.

Tiempo (min)	RATA						Media ± D.E.
	1	2	3	4	5	6	
0	10,40	24,37	33,08	68,98	68,72	8,08	35,60 ± 27,34
15	66,68	28,49	48,95	---	98,22	36,25	55,72 ± 27,81
30	63,33	34,19	51,97	---	98,57	39,52	57,52 ± 25,58
60	63,61	37,62	51,98	75,27	97,67	44,62	61,80 ± 22,13
120	73,14	34,16	32,08	83,14	101,97	39,45	60,66 ± 29,45
180	76,83	38,48	41,86	---	111,82	38,70	61,54 ± 32,41
240	87,89	36,25	38,89	39,44	98,84	36,78	56,35 ± 28,90
360	64,73	43,54	31,97	68,61	79,54	40,40	54,80 ± 18,74
480	60,57	44,11	26,95	60,47	70,60	41,89	50,76 ± 15,96

Tabla A30. Parámetros farmacocinéticos de **RFP** obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 10**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	240,00	480,00	60,00	120,00	180,00	60,00	190,00 \pm 158,37
C_{max}	87,89	44,11	51,98	83,14	111,82	44,62	70,59 \pm 27,85
AUC_{last}	33.675,67	18.564,60	17.880,67	30.662,40	44.105,47	18.862,05	27.291,81 \pm 10.682,77

t_{max}: min, C_{max}: µg/ml, AUC_{last}: µg·min/ml

Tabla A31. Niveles plasmáticos de **RFP** (µg/ml) obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 11**.

Tiempo (min)	RATA						Media \pm D.E.
	1	2	3	4	5	6	
0	105,02	110,09	56,96	159,94	136,11	163,47	121,93 \pm 40,05
15	105,29	117,89	67,61	147,36	123,16	148,19	118,25 \pm 30,00
30	100,33	146,13	70,48	144,41	112,55	166,89	123,46 \pm 35,49
60	103,35	150,49	65,28	122,91	99,60	161,30	117,16 \pm 35,45
120	110,73	151,15	71,55	122,02	95,72	138,50	114,94 \pm 28,94
180	123,97	139,46	53,46	120,63	95,03	126,63	109,86 \pm 31,22
240	137,87	128,22	46,12	108,03	99,95	106,50	104,45 \pm 32,00
360	163,49	144,02	76,94	161,82	163,74	145,25	142,54 \pm 33,39
480	162,19	135,33	102,69	187,63	187,16	129,05	150,67 \pm 34,16

Tabla A32. Parámetros farmacocinéticos de **RFP** obtenidos el quinto día del ensayo en los animales del **grupo 11**.

	RATA						Media \pm DE
	1	2	3	4	5	6	
t_{max}	360,00	120,00	480,00	480,00	480,00	30,00	325,00 \pm 201,17
C_{max}	163,49	151,15	102,69	187,63	187,16	166,89	159,83 \pm 31,38
AUC_{last}	65.115,67	67.032,60	33.010,35	67.148,02	61.201,50	65.128,20	59.772,72 \pm 13.286,05
t _{max} : min, C _{max} : µg/ml, AUC _{last} : µg·min/ml							

